UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1967-1968 N° 852

Contribution à l'étude chimique qualitative de quelques espèces du genre Cassia L.

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le septembre 1968

devant la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

ROBERT ANTON
Pharmacien
Assistant à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Examinateurs de la Thèse :

MM. Pierre DUQUÉNOIS, Professeur, Président
Paul JAEGER, Professeur
Claude MATHIS, Maître de Conférences
} Juges

1968

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1967-1968 N° 852

Contribution à l'étude chimique qualitative de quelques espèces du genre Cassia L.

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le septembre 1968

devant la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

ROBERT ANTON
Pharmacien
Assistant à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Examinateurs de la Thèse

MM. Pierre DUQUÉNOIS, Professeur, Président
Paul JAEGER, Professeur
Claude MATHIS, Maître de Conférences
} Juges

1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

FACULTÉ DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Doyen : M. M.HASSELMANN.

Doyen honoraire : M. P.DUQUÉNOIS.

Assesseur : M. J.SCHREIBER.

Professeurs :

MM. R.SARTORY	Bactériologie et Cryptogamie
P.CORDIER	Pharmacie chimique
P.DUQUÉNOIS	Matière médicale et Hydrologie
P.JAEGER	Botanique
G.GAZET DU CHATELIER	Pharmacie galénique
M.HASSELMANN	Chimie analytique
J.SCHREIBER	Chimie organique
P.MÉTAIS	Chimie biologique
G.LAUSTRIAT	Physique et Mathématiques
J.C.STOCLET	Pharmacodynamie

Professeurs honoraires : MM. C.LAPP - J.P. EBEL.

Professeurs sans chaire :

MM. A.LEDOUX	Zoologie
J.MALGRAS	Hygiène
G.DIRHEIMER	Sciences appliquées

Maîtres de Conférences :

MM. C.F.LAPP	Sciences physico-chimiques
L.JUNG	Physique
C.MATHIS	Pharmacie galénique
A.STAHL	Biochimis pharmaceut. et technique

Maître de Conférences honoraire : M. E.COLLARD

Cours complémentaire :

Mme. HUET-WEILLER	Législation et Déontologie pharmac

Chefs de travaux pratiques :

Mme.	M.KRISTENSEN-REH	Chimie
Mme.	N.OURISSON-HEILIGENSTEIN	Physiologie végétale
M.	C.ROMOND	Bactériologie
M.	P.LAUGEL	Chimie
Mme.	D.WENCKER-SCHAELDERLÉ	Physique et Mathématiques
M.	C.G.WERMUTH	Chimie
Mlle	M.MEYLAENDER	Essais de médicaments végétaux
M.	G.STEINECKER	Pharmacie galénique et Zoologie
Mlle	C.ASSENMACHER	Chimie
M.	H.LAMI (délégué dans les fonctions)	Physique
M.	J.P.SCHREIBER (- - - -)	Physique
M.	Y.CHAMBRON (- - - -)	Chimie biologique
M.	B.HORB (- - - -)	Parasitologie et Histologie

A mon Maître et Président de Thèse,

Monsieur le Doyen honoraire P. DUQUÉNOIS,

Membre correspondant de l'Académie nationale de Médecine,

Professeur de Matière médicale

à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Hommage de profonde reconnaissance
et de respectueux attachement.

A mes examinateurs

Monsieur le Professeur P. JAEGER,

Membre correspondant de l'Institut,

Professeur de Botanique

à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Monsieur C. MATHIS,

Maître de Conférences agrégé de Pharmacie galénique

à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

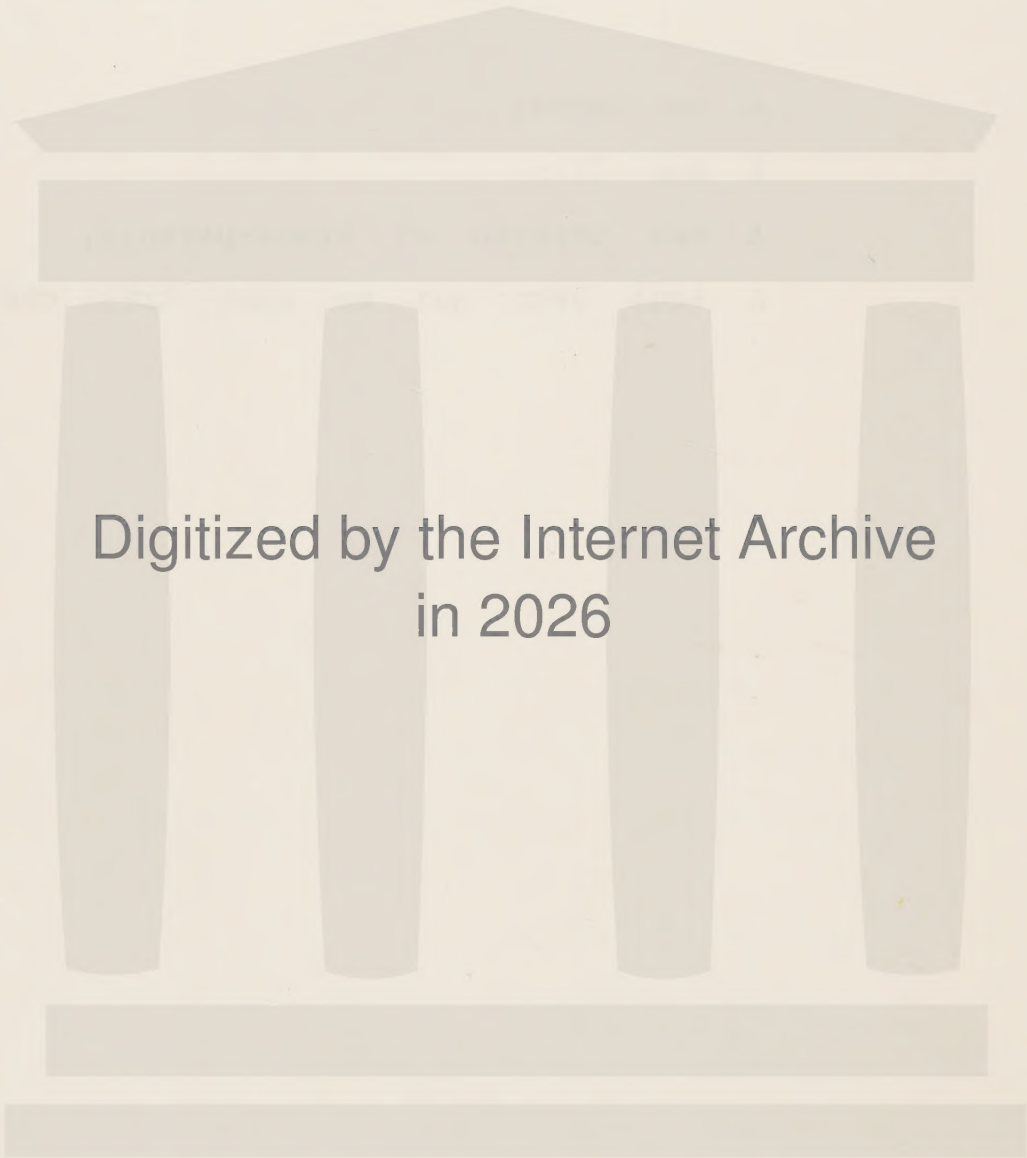
Hommage de respectueuse gratitude.

A ma femme,

A mon fils,

A mes parents et beaux-parents,

A tous ceux qui me sont très chers.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552711_0015

I N T R O D U C T I O N

Le genre Cassia est surtout apprécié en Pharmacie pour deux de ses espèces, Cassia acutifolia Del. et Cassia angustifolia Vahl, inscrites à la VIII^{e} édition de la Pharmacopée française et au premier volume de la Pharmacopée européenne. Celles-ci font partie des drogues végétales purgatives classiques. Leur valeur thérapeutique est principalement due à la présence de dérivés 1,8 dihydroxyanthracéniques.

Parmi les quelques six cents espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales que compte le genre Cassia, bien d'autres sont utilisées empiriquement dans leur pays d'origine en raison de leurs propriétés pharmacologiques. Mais leur composition chimique présente de très nombreuses inconnues.

Les méthodes d'analyse chimique des plantes médicinales employées autrefois étaient longues et fastidieuses. La biochimie végétale a été complètement rénovée grâce aux nombreux perfectionnements et à la finesse d'analyse qu'offre la chromatographie. Parmi les méthodes chromatographiques, la C.C.M.* présente des avantages très précieux : rapidité du développement, emploi d'adsorbants de nature et d'épaisseur variable, possibilité de révélation à l'aide de réactifs agressifs etc... C'est cette méthode que nous avons principalement utilisée.

Nous avions la chance de disposer d'échantillons de l'herbier personnel du Professeur P. JAEGER, dont la détermination botanique exacte, le lieu et la date de récolte étaient parfaitement connus; le Professeur P. DUQUÉNOIS nous a tout d'abord proposé de les examiner au point de vue chimique en leur appliquant la tech-

*C.C.M. : chromatographie en couche mince ou sur couche mince.

nique de C.C.M. proposée par la Pharmacopée européenne pour les Sénés officinaux. Nous avons ainsi constitué une sorte de "fichier signalétique", où chaque chromatogramme est caractéristique de l'espèce et distinctif des espèces voisines.

Nous n'avons pas tardé à nous rendre compte que même chacun de leurs organes donnait une image spécifique, permettant donc de reconnaître les substitutions ou les falsifications. Mais il nous a paru utile de tenter de caractériser chacun des constituants majeurs apparaissant sur les chromatogrammes. Ceci nous a amené à mettre au point une méthode analytique plus complète que la technique de la Pharmacopée européenne, permettant avant tout de déterminer la nature des dérivés anthracéniques. Mais nous avons rencontré également des flavonoïdes d'une manière quasi constante. Pour l'identification particulière de chaque composant, les autres moyens chromatographiques (C.S.P.*, C.S.C.*, chromatographie préparative sur gel de silice) et la spectrométrie ultraviolette nous ont été d'un grand secours.

Notre travail devait confirmer que dans chaque espèce, il peut y avoir une grande variété de dérivés anthracéniques, sous forme libre ou combinée, réduite ou oxydée. Nous avons alors élargi le problème.

Puisque nous possédions des données concernant des espèces réparties dans presque toutes les sections de la classification botanique, nous avons cherché à découvrir des relations entre la présence de certains dérivés anthracéniques et la place de l'espèce dans la systématique.

Enfin, nous espérons que cette contribution à une meilleure connaissance de la composition chimique des Cassia n'est pas dénuée d'intérêt pharmacologique, quoique ce ne soit pas le but que nous nous étions assigné.

*C.S.P. : chromatographie sur papier.
*C.S.C. : chromatographie sur colonne.

Avant d'exposer ces recherches,

nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur P. DUQUÉNOIS, pour la confiance qu'il nous a accordée en nous proposant ce sujet de thèse. Nous lui exprimons notre très vive gratitude pour tout le dévouement qu'il n'a cessé de manifester en guidant jour après jour la progression de ces recherches et pour tant de précieux conseils qu'il nous a prodigués.

Nous prions Monsieur le Professeur P. JAEGER de trouver ici l'expression de notre profonde gratitude pour avoir bien voulu nous offrir des échantillons de son herbier personnel, pour le grand intérêt qu'il a manifesté tout au cours du développement de notre travail et pour avoir accepté de le juger.

Nos remerciements vont tout particulièrement à Monsieur le Professeur agrégé C. MATHIS, Maître de Conférences, qui nous a fait profiter de sa compétence en phytochimie et nous a fait l'honneur d'être notre juge.

Nous tenons à associer dans notre gratitude tous ceux qui ont bien voulu nous fournir du matériel botanique et sans qui ce travail n'aurait pu être mené à bien :

- Monsieur le Dr P. BOITEAU, A. Directeur du Jardin botanique de Tananarive, pour les échantillons récoltés et déterminés pour nous à Madagascar,
- Monsieur E. MOREIRA, Professeur de Botanique et de Pharmacognosie à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Paraná, Curitiba (Brésil), pour nous avoir aimablement fait parvenir une espèce de Cassia peu courante,
- Monsieur le Dr E.F. STEINMETZ, importateur à Amsterdam, qui nous a fait don de nombreuses espèces commerciales de Cassia,
- Mademoiselle G. PAULAY, pour nous avoir adressé diverses espèces en provenance de Dakar (Sénégal),
- Monsieur Y. SELL, pour des plants fleuris du Jardin botanique de la Faculté des Sciences de Strasbourg,
- Monsieur le Directeur du Jardin botanique de la Villa Taronto, Pallanza (Italie), pour l'envoi de folioles de diverses espèces

de Cassia.

Qu'il nous soit permis d'exprimer tous nos remerciements à Monsieur J.P.M. BRENAN, Royal Botanic Gardens Kew (Angleterre), et à Monsieur R.L. STEYAERT, Ingénieur Agr. Gx. Bruxelles, Chef de Travaux à l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, qui ont tous deux bien voulu s'intéresser à notre travail et nous faire bénéficier de leur grande expérience de systématicien.

Nos remerciements vont aussi aux Laboratoires SANDOZ S.A. pour avoir bien voulu mettre à notre disposition des échantillons de sennosides à une époque où ils n'étaient pas encore commercialisés.

Nous avons trouvé le meilleur accueil auprès de Monsieur le Professeur Egon STAHL et du Dr P. SCHORN à l'Université de Sarrebrück dans l'initiation à la chromatographie sur couche mince.

Enfin, nous ne saurions oublier tous nos amis du Laboratoire de Matière médicale qui ont su nous entourer d'une atmosphère si sympathique.Qu'ils trouvent ici l'expression de notre reconnaissance, en particulier :

Mademoiselle M. MEYLANDER, Chef de Travaux, pour sa compétence en histologie végétale, Madame M. HAAG, Docteur en Pharmacie, pour ses connaissances phytochimiques, ainsi que Monsieur M. REUTHER, aide technique, pour ses qualités d'ingéniosité qu'il a mises à notre disposition.

PLAN DU TRAVAIL

- Introduction

- Première partie : Rappel des travaux antérieurs :
  application de la chromatographie à l'étude des drogues à dérivés anthracéniques.

- Deuxième partie : Recherches personnelles :
  amélioration des techniques pour l'identification des dérivés anthracéniques.

- Troisième partie : Recherches personnelles :
  application à l'analyse phytochimique de diverses espèces de Cassia.

- Quatrième partie : Discussions chimio-taxinomique et biogénétique concernant le genre Cassia.

- Conclusions

- Bibliographie

PREMIERE PARTIE

Rappel des travaux antérieurs :

1) chromatographie appliquée à l'étude des drogues à dérivés anthracéniques.

2) proposition de la Commission européenne de Pharmacopée pour l'identification chimique des Sénés.

La caractérisation des dérivés anthracéniques dans les drogues purgatives a fait l'objet d'un nombre considérable de publications depuis que BORNTRAEGER décrivit la réaction fondamentale qui porte son nom [1]. Cette réaction colorée d'identification des hydroxyanthraquinones en milieu fortement alcalin a servi de base à l'évaluation quantitative de diverses formes présentes dans les espèces du genre Cassia L. : anthraquinone-glucosides, etc. Depuis E. MAURIN [2] jusqu'à S. SHIBATA, on déterminait globalement chacune de ces catégories en effectuant la réaction avant et après hydrolyse, avant et après oxydation, à l'aide du peroxyde d'hydrogène par exemple [3], [4], [5], [2].

1) Chromatographie appliquée à l'étude des drogues à dérivés anthracéniques :

La chromatographie sur papier, permettant de séparer les divers constituants de chacune de ces catégories, a fait faire un progrès notable et les travaux de S. SHIBATA et collaborateurs [6], de J.W. FAIRBAIRN et collaborateurs [7], [8], [9], [10], de DE QUEKER [11], de J. LEMLI [12], [13], d'A. CORREIA ALVES [14] sont parmi les plus importants à cet égard. On en trouvera les références dans une Revue d'ensemble de L. KRAUS [15] et dans les travaux ultérieurs de J. LEMLI. Parallèlement aux études menées sur d'autres genres (Aloe L., Rheum L., Rhamnus L.), ceux sur les Cassia officinaux, utilisant la papyrographie, ont permis de découvrir des formes nouvelles de dérivés anthracéniques naturels, telles que les sennosides [16], [17].

La C.C.M., qui a pris un essor considérable sous l'impulsion d'E. STAHL [18], devait, à cause de sa commodité, faire avancer à nouveau l'analyse des drogues à dérivés anthracéniques. E. STAHL et P.J. SCHORN [19] ont d'abord proposé le système benzène-formiate d'éthyle-acide formique (75:24:1) qui sépare divers aglucones sur couche mince de gel de silice. Désirant obtenir des informations plus nombreuses sur une même plaque, L. HÖRHAMMER,

H. WAGNER et G. BITTNER [20] ont été amenés à employer le mélange n-propanol-acétate d'éthyle-eau (4:4:3) qui permet de mettre en évidence les hétérosides pharmacologiquement plus actifs, à côté des génines éventuellement présentes. Ce mélange miscible chemine relativement vite, parcourant 10 cm en soixante à soixante-dix minutes.

Quelques autres publications sur les dérivés anthracéniques font état de la C.C.M. : B. ÇUBUKÇU [21], M. DURAND et R. PARIS [22], J. MASSE et R. PARIS [23] ont essayé de départager les constituants anthraquinoniques sur couche mince en utilisant des mélanges d'hexane-acétate d'éthyle. Afin de séparer les sennidines des autres génines anthracéniques après hydrolyse des décoctions de Séné officinal, A. MOËS [24] a préconisé en 1964 un mélange benzène-ac. acétique (4:1). Pour un développement de 10 cm la durée n'est que de trente minutes. Cette méthode convient très bien pour distinguer les sennidines et les autres aglucones à fonction acide libre (fraction rhéinique). Cependant elle n'est pas satisfaisante pour la résolution des génines non rhéiniques. Afin d'essayer d'y remédier, MOËS a fait appel à la chromatographie sur polyamide, à l'aide d'un mélange benzène-acide acétique (9:1). Le cheminement sur 10 cm dure une heure environ. La séparation de l'aloeémodol et de l'émodol est alors excellente; cependant on ne peut distinguer les autres hydroxyanthraquinones entre elles (chrysophanol, chrysazine, physcion, etc.) car ce solvant ne disjoint pas leur taches. POETHKE et ses collaborateurs [25] avaient trouvé une solution à ce problème, par chromatographie sur papier; mais leurs expériences de C.C.M. avec le mélange benzène-acétate d'éthyle (3:1) sur divers adsorbants avaient été infructueuses. Ces raisons nous ont fait rechercher une variante sur gel de silice.

2) Proposition de la Commission européenne de Pharmacopée pour l'identification chimique des Sénés :

Les monographies sur les folioles et les follicules de Sénés (C. angustifolia Vahl et C. acutifolia Del.) pour la première

édition de la Pharmacopée européenne (Ph. Eur.), comportent un essai d'identité par C.C.M. au moyen du mélange n-propanol-acétate d'éthyle-eau (4:4:3). En voici le mode opératoire, tel qu'il a été élaboré par E. STAHL et J. LEMLI :

Chauffez à ébullition 0,50 g de poudre de Séné avec 5 ml d'un mélange à volumes égaux d'alcool à 95° et d'eau. Centrifugez. Le liquide surnageant sert de solution à examiner.

Préparez d'autre part une solution témoin : dissolvez 10 mg de sennoside A et 10 mg de sennoside B dans 10 ml de la phase mobile utilisée pour la chromatographie, en chauffant légèrement, le cas échéant.

Sur une couche de gel de silice (0,25 mm) appliquez 10 µl de la solution à examiner et 10 µl de la solution témoin respectivement sur une ligne de 15 mm de long et 5 mm de large au maximum. Développez à l'aide d'un mélange de 40 vol. de n-propanol, de 40 vol. d'acétate d'éthyle et de 30 vol. d'eau. Sur un parcours de 10 cm le temps de migration est de soixante à soixante-dix minutes. Pulvérisez sur la plaque d'acide nitrique à 25 % p/v, puis chauffez dix minutes à 120°. Après refroidissement, pulvérisez une solution d'hydroxyde de potassium à 5 % p/v dans l'alcool à 50 % p/v jusqu'à apparition de taches colorées. Le chromatogramme de la solution à examiner présente deux taches brun pourpre dont le R_F est voisin de celui des taches du chromatogramme de la solution témoin. En outre, le chromatogramme de la solution à examiner présente, immédiatement au-dessus, deux taches brun pourpre de sennosides C et D et entre celles-ci une tache rouge de rhéine-glucoside.

Dans le cas des follicules, les sennosides C et D n'apparaissent pas.

D E U X I E M E P A R T I E

Recherches personnelles :

techniques améliorées pour caractériser et identifier les dérivés anthracéniques.

Chapitre I.- EXTRACTION DES PRINCIPES ACTIFS ET MARCHE DE L'ANALYSE

Les différentes méthodes d'extraction ont été étudiées sur les folioles du C. angustifolia Vahl et du C. acutifolia Del.

Dans la technique de la Pharmacopée européenne, indiquée précédemment, dont le but est une identification rapide, il est proposé de traiter la poudre de drogue par dix fois son poids d'alcool à 50° jusqu'à ébullition; les sennosides, produits pharmacologiquement intéressants, sont extraits, au moins en partie, ainsi que la glucosyl-8 rhéine. Cependant, tous les autres constituants anthracéniques et divers flavonoïdes passent en trop faible quantité dans la solution pour être décelés par une C.C.M. ultérieure. Certes, des épuisements successifs au Soxhlet, par des solvants de plus en plus polaires, permettent d'obtenir une série d'extractifs qui contiennent la totalité des principes caractéristiques de chaque drogue. Mais ces épuisements sont longs et font perdre l'avantage du remplacement de la C.S.P. par la C.C.M.

Pour cette raison, nous nous proposons d'effectuer plusieurs sortes d'extractions rapides, mais dont l'interprétation d'ensemble donne une image relativement exhaustive de la composition de la drogue.

1° EXTRACTION GLOBALE

Deux sortes d'extractions sont nécessaires : l'une avec de l'alcool dilué servira de référence, l'autre, aqueuse, sera destinée à l'analyse approfondie.

a) Extraction hydroalcoolique par décoction de la drogue dans l'alcool éthylique à 50°.- Peser 1 g de drogue concassée. Ajouter 20 ml d'alcool éthylique à 50°. Placer au B.M. dix minutes en surmontant d'un réfrigérant à reflux. FAIRBAIRN [10] a estimé cette durée judicieuse; un temps plus court n'extrairait pas suffisamment de principes et cela est important lorsque la drogue

n'est pas très active; au-delà de vingt minutes une partie des glucosides est détruite. Le choix du titre alcoolique est essentiel : un alcool de titre élevé dissoudrait des cires, des graisses et trop de chlorophylles, qui masqueraient des taches d'anthraquinones. D'autre part la solution maximale des sennosides A et B a lieu, selon A. STOLL et ses collaborateurs [26], avec l'alcool à 70°; ces hétérosides sont difficilement solubles dans l'éthanol absolu et dans l'eau. Ainsi, nous avons été amenés à choisir, dans la technique générale, le degré intermédiaire de 50°, comme le propose la Pharmacopée européenne. Mais il y aura parfois avantage à essayer l'alcool à 70° dans l'analyse de Cassia pauvres en chlorophylle et peu chargés en cires. Dans tous les cas, décanter la liqueur surnageante qui servira à la C.C.M.

b) Extraction aqueuse.- A 1 g de drogue concassée, ajouter 20 ml d'eau. Placer au bain-marie quinze minutes (la pénétration de l'eau dans les tissus est plus lente qu'avec de l'alcool). Décanter la liqueur surnageante qui servira à la C.C.M.

c) Intérêt de ces deux extractions.- Une C.C.M. préalable de la solution hydroalcoolique donne une information d'ensemble sur la composition du Cassia étudié, car toutes les anthraquinones et leurs hétérosides sont en partie solubles dans l'alcool dilué. Cette C.C.M. sert donc de référence. Une C.C.M. ultérieure de la solution aqueuse extractive permettra de contrôler si la composition est qualitativement la même que la solution hydroalcoolique, car il sera plus aisé et plus rapide, pour les extractions ultérieures avec des solvants organiques, d'effectuer l'analyse dichotomique sur une solution aqueuse. Il est donc indispensable de savoir si tous les constituants observés dans a) sont bien présents dans b). Quoique les sennosides purs soient relativement insolubles dans l'eau, nous avons constaté leur passage dans les décoctés aqueux, peut-être à la faveur des substances qui les y accompagnent. On peut estimer que, dans les Sénés officinaux, la teneur en sennosides suffit pour la détection. Quoiqu'il en soit, pour des espèces dont la richesse en sennosides serait moins importante, il conviendrait de neutraliser la solution aqueuse au

préalable afin de les transformer en sels solubles.

2° TECHNIQUE GÉNÉRALE DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE

Elle fait appel principalement aux travaux belges de J. LEMLI [27] et de A. MOËS [24].

a) Génines libres.- A 15 ml de solution aqueuse extractive on ajoute 20 ml d'éther et l'on agite vigoureusement. L'éther se colore en jaune intense. Il est recueilli. La solution aqueuse est encore épuisée deux à trois fois avec 20 ml d'éther, jusqu'à ce que celui-ci ne soit plus coloré. Les solutions éthérées sont réunies, séchées avec du sulfate de sodium anhydre et concentrées au bain-marie jusqu'à environ 5 ml : c'est la fraction 1 des génines libres. Elle sera chromatographiée.

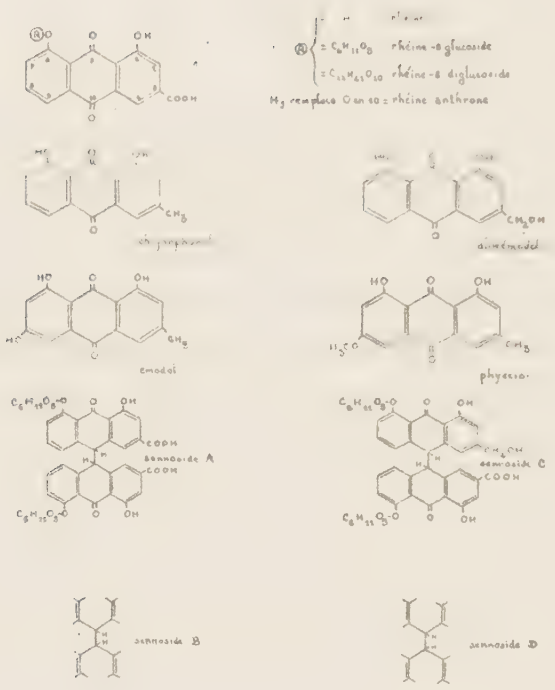
b) Hétérosides.- La solution aqueuse débarrassée des génines libres est additionnée de 20 ml d'acide chlorhydrique à 25 % et placée au bain-marie quinze minutes. L'hydrolysat est alors refroidi, épuisé par trois fois 20 ml d'éther. Après réunion des fractions éthérées et séchage sur sulfate de sodium, le volume est ramené à 40 ml par évaporation au bain-marie.

La fraction aqueuse conservée servira à la recherche des C-glucosides. La fraction éthérée destinée à la recherche des génines provenant des O-glucosides est divisée en trois portions de 10 ml, 20 ml, 20 ml.

Les 10 ml serviront à la détermination par C.C.M. des génines totales après hydrolyse : fraction 2.

Une portion de 20 ml permettra la séparation en deux catéries : les constituants rhéiniques et les constituants non rhéiniques (chrysophanol, aloémodol, émodol, physcion, voir tableau I). Ces 20 ml d'éther sont agités avec 20 ml de solution aqueuse de borate de sodium 0,05 M. Les molécules à carboxyle libre sont transformées en sels sodiques solubles dans la phase aqueuse, les autres restent dans la phase éthérée. L'éther séparé contient donc les génines non rhéiniques après hydrolyse : c'est la fraction 3.

Tableau I



La solution alcaline restante, rouge, est acidulée par HCl dilué, afin de régénérer les acides. Redevenue jaune, elle est épuisée par de l'éther que l'on sèche et concentre à 5 ml : fraction 4 des génines rhéiniques après hydrolyse.

Enfin l'autre portion de 20 ml d'éther est évaporée à sec au bain-marie et le résidu est repris par environ 1 ml d'alcool éthylique à 50°. Après y avoir ajouté 24 ml de solution aqueuse de chlorure ferrique à 26 %, le tout est placé au bain-marie trente minutes afin d'oxyder les génines. En effet, la fraction 2 étant simplement le produit d'une hydrolyse de quinze minutes contient les anthrones et les dianthrones (sennidines A, B, C, D). Nous avons remarqué qu'une hydrolyse par HCl à 25 % des sennosides A et B au-delà de trente minutes coupe la liaison C-C en 10-10' et

les transforment en rhéine. L'hydrolyse de trente minutes s'avère insuffisante dans certains cas et ne permet pas l'oxydation des génines; c'est pourquoi nous préconisons l'utilisation d'emblée du chlorure ferrique. Ainsi, les anthrones sont oxydées en anthraquinones [28] et les dianthrones scindées en anthrones, puis transformées en anthraquinones [29]. Après refroidissement, la solution est épuisée par deux fois 10 ml de chloroforme. Les solutions chloroformiques réunies, lavées à l'eau pour éliminer l'excès de fer, sont concentrées au bain-marie à 5 ml. C'est la fraction 5 des génines oxydées après hydrolyse.

Quant à la fraction aqueuse destinée à la recherche des C-glucosides (les Sénés n'en renferment pas, mais il pourrait s'en trouver dans d'autres Cassia), elle est additionnée de 24 ml de solution de chlorure ferrique à 26 % et placée trente minutes au bain-marie. Après refroidissement, elle est épuisée par deux fois 10 ml de chloroforme. Les solutions chloroformiques sont lavées à l'eau, puis concentrées à 5 ml au bain-marie : c'est la fraction 6 des C-aglucones.

Chapitre II.- ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE SUR COUCHE MINCE DANS LE n-PROPANOL-ACÉTATE D'ÉTHYLE-EAU (4:4:3)

1° TECHNIQUES EMPLOYÉES :

a) Préparation des plaques.- Nous utilisons le gel de silice GF 254, afin d'examiner la fluorescence en lumière U.V. sous deux longueurs d'onde, 366 nm et 254 nm. Dans le cas particulier du solvant 4:4:3 nous avons de bons résultats avec des couches de gel ayant 0,25 mm ou 0,50 mm d'épaisseur.

b) Dépôt des solutions à analyser.- Avec une pipette de 10 µl. sur une ligne de 15 mm de long et de 3 mm de large au maximum.

c) Développement.- En cuve saturée par une bande de papier-filtre tapissant les parois et plongeant dans le solvant, à l'abri d'une lumière vive, entre 18 et 22° C. Le solvant 4:4:3 doit être préparé chaque jour.

d) Examen des spots en lumière U.V.- Après séchage à l'air libre, la plaque est d'abord examinée sous la lumière de longueur d'onde 366 nm pour observer la couleur de fluorescence des taches. Un deuxième examen sous la lumière de longueur d'onde 254 nm révèle, sur fond fluorescent vert clair, les taches sombres des composants. La conjugaison des deux examens est nécessaire pour observer le maximum de constituants. La technique de la Pharmacopée européenne, plus sommaire, ne comporte aucun examen en lumière U.V.

e) Révélation des spots à la lumière du jour.- Le projet de Pharmacopée européenne propose, pour l'identification, une révélation par l'hydroxyde de potassium alcoolique à 50 $\frac{c}{-}$ après avoir traité la plaque par NO_3H à 25 % et l'avoir chauffée à l'étuve. Dans ces conditions, les sennosides et les anthrones libres et combinés ont été oxydés en anthraquinones et ils se révèlent en brun pourpre, tandis que les dérivés anthraquinoniques primitifs deviennent rouge violacé (les flavonoïdes restent jaunes). Notons que la quantité de NO_3H appropriée est de 5 à 15 ml pour obtenir

ce résultat.

La distinction entre le brun pourpre et le rouge violacé s'avérant délicate lorsqu'il s'agit d'un dégradé de deux taches en contact, nous jugeons nécessaire d'effectuer une révélation complémentaire sur un autre chromatogramme. Il s'agit d'une réaction de BORNTRAEGER directe, sans oxydation préalable. En pulvérisant une solution d'hydroxyde de potassium à 10 % dans l'éthanol à 95° (qui ne "mouille" pas la plaque), les anthraquinones libres et combinées seules se révèlent en rouge violacé. Toutes les autres taches (anthrones et dérivés, flavonoïdes) sont jaunes. En confrontant les deux chromatogrammes ainsi révélés différemment, on voit que :

- les anthraquinones libres et hétérosidiques sont rouge violacé dans les deux cas;
- les anthrones libres ou hétérosidiques sont jaunes à la potasse directe et se révèlent en brun pourpre par la potasse après oxydation;
- les autres substances, telles que les flavonoïdes, restent jaunes dans les deux cas.

Bien entendu, il sera bon de parfaire l'identification en pulvérisant des réactifs caractéristiques des flavonoïdes ($AlCl_3$ en solution éthanolique à 5 % notamment). Il est également possible de mettre en évidence chez certaines espèces de Cassia (autres que les Sénés officinaux) des leucoanthocyannes par exposition de la plaque aux vapeurs chlorhydriques en les transformant en anthocyanidines colorées.

2° APPLICATION DU SOLVANT n-PROPANOL-ACÉTATE D'ÉTHYLE-EAU (4:4:3) AUX FOLIOLES DE C. acutifolia ET DE C. angustifolia :

a) Substances de références utilisées.- Sennosides A et B des Laboratoires Sandoz. Leur solution dans l'alcool éthylique à 50° doit être préparée extemporanément, de même que les solutions de référence dans la phase mobile. Après quelques mois de conservation elles contiennent un mélange de sennosides, rhéine-anthrone-glucoside et même rhéine-glucoside.

Les divers échantillons d'anthraquinones naturelles proviennent du laboratoire.

b) Conclusions.- Rappelons que selon la technique proposée pour la Pharmacopée européenne le chromatogramme présente cinq taches qui sont respectivement, en partant de la ligne de départ : les sennosides B, A, D, le rhéine-glucoside, le sennoside C. Ils correspondent aux taches numérotées 1, 3, 4, 5 et 6 sur la figure 1. En réalité, les images chromatographiques peuvent être plus complexes et donnent davantage d'informations si l'extraction et la révélation sont plus poussées, comme nous le relatons précédemment. Après avoir examiné des échantillons commerciaux de Sénés purs, nous sommes parvenus à mettre en évidence au moins treize taches (fig. 1).

La notation des taches chromatographiques sur les diverses figures sera toujours la même :

a) Le contour des taches est en traits pleins lorsque celles-ci seront aisément décelables, en pointillés lorsqu'elles le seront difficilement.

b) Le contenu des taches est :

- en hachures parallèles lorsque leur nature est anthraquinonique : couleur rouge-violet après KOH.
- en pointillés lorsque leur nature dianthro-

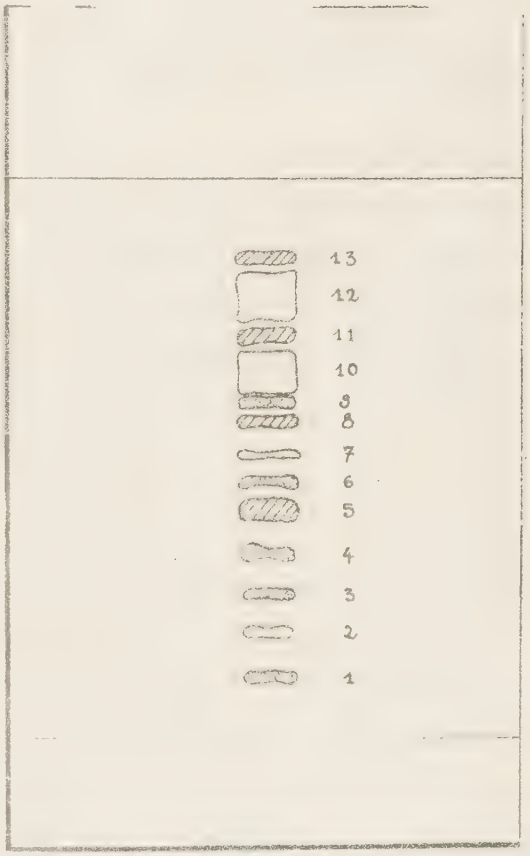


Fig. 1

nique conduit à une coloration jaune après KOH et brun-pourpre après HNO_3 et KOH
(cas de la rhéine, de l'émodol, de l'aloeémodol).
- en hachures croisées si leur nature est dianthronique mais leur révélation brun-pourpre directement après KOH
(cas du chrysophanol et du physcion).
- laissé en blanc si leur nature n'est pas anthracénique
(flavonoïdes, leucoanthocyannes, alcaloïdes...).

Voici les R_F dans le 4:4:3 de ces différentes taches, leur nature et leurs caractères :

0,08-0,11, n° 1 = sennoside B :
- même R_F que le sennoside B témoin;
- fluorescence rouge sombre des anthrones, coloration jaune après KOH directe et brun pourpre après KOH et oxydation préalable;
- après hydrolyse oxydative de la tache adsorbée sur gel de silice directement effectuée par HCl et $FeCl_3$ et nouvelle C.C.M. dans le (4:1), on obtient la rhéine.

0,13-0,15, n° 2 = flavonoïde (hétéroside).

0,17-0,22, n° 3 = sennoside A : preuves analogues au n° 1.

0,27-0,29, n° 4 = sennoside D :
- fluorescence et révélations indiquent une anthrone;
- hydrolyse oxydative par HCl+$FeCl_3$ conduit à deux constituants séparables dans le (4:1) : rhéine et aloeémodol. La molécule primitive est donc dissymétrique. Elle possède un carboxyle en 3 et un méthylol en 3'. Il s'agit bien du sennoside D [30] découvert par LEMLI et CUVEELE [16].

0,35-0,39, n° 5 = Rhéine-glucoside : fluorescence : et révélations caractérisent une anthraquinone, dont la molécule est simple. L'hydrolyse conduit à la rhéine identifiée dans le (4:1).

0,40-0,42, n° 6 = sennoside C : pour des raisons analogues au n° 4 il s'agit du sennoside C découvert par LEMLI et CUVEELE [16].

0,45-0,47, n° 7 = flavonoïde : d'après fluorescences et colorations.

0,48-0,50, n° 8 = rhéine libre :

- même R_F que la rhéine témoin;
- est extraite directement par agitation d'un décocté aqueux avec de l'éther; même R_F que la rhéine témoin quand cet éther est chromatographié dans le (4:4:3) ou dans le (4:1). Noter que le décocté privé de rhéine laisse apparaître au même R_F que celle-ci dans le (4:4:3) une substance à fluorescence bleu ciel, normalement masquée par la rhéine.

0,50-0,54, éventuellement chlorophylle à fluorescence rouge vif, si le titre alcoolique pour l'extraction est élevé.

0,54-0,56, n° 9 = aloeémodol-dianthronediglucoside déjà isolé par LEMLI [31] :
- fluorescence masquée par chevauchement du flavonoïde n° 10;
- jaune par KOH directe;
- brun pourpre par KOH après oxydation (anthrone);
- hydrolyse oxydative du constituant de la tache par $HCl+FeCl_3$ donne aloeémodol révélé dans le (4:1).

0,55-0,65, n° 10 = flavonoïde (hétéroside).

0,67-0,71, n° 11 = aloeémodolglucoside :
- fluorescence et révélations indiquent une anthraquinone;
- hydrolyse oxydative ferrique pratiquée sur le gel de silice donne aloeémodol, révélé dans le (4:1). Il doit s'agir de la substance isolée du C. angustifolia par FAIRBAIRN et A.B. SHRESTHA [32].

0,72-0,81, n° 12 = flavonoïde libre :
- fluorescence turquoise intense par $AlCl_3$;
- même R_F que le kaempférol dans les divers solvants (0,83 dans le (4:1:5) sur papier);
- hydrolysat du composant adsorbé sur le gel de silice et re-chromatographié a toujours R_F du kaempférol. Il s'agit du kaempférol libre, découvert par TUTIN [33].

0,82-0,85, n° 13 = mélange d'anthraquinones libres.

0,95, éventuellement chlorophylle.

Chapitre III.- NOUVELLE MÉTHODE D'IDENTIFICATION PAR C.C.M. DES GÉNINES ANTHRACÉNIQUES

A plusieurs reprises au cours de la marche analytique qui vient d'être exposée, des génines anthracéniques se trouvent en mélange. L'hydrolyse, l'hydrolyse oxydante donnent des mélanges d'anthrones, d'anthraquinones, qui ne peuvent être fractionnés dans le (4:4:3). Les anthraquinones libres, mise à part la rhéine, migrent ensemble dans ce solvant pour donner une tache intense vers R_F 0,85-0,90. Dans le cas particulier des Sénés, comme dans celui d'autres espèces de Cassia, l'absence d'une méthode de résolution en couche mince de toutes les hydroxyanthraquinones naturelles empêchait de distinguer certaines d'entre elles avec certitude. Nous avons essayé de combler cette lacune. C'est ainsi que le n-hexane à 4 % d'éthanol permet de séparer le chrysophanol, la dihydroxy-1,8 anthraquinone et le physcion; cette séparation est encore insuffisante. Nous obtenons de bien meilleurs résultats avec un solvant miscible, le n-hexane-acide acétique (4:1). Le cheminement est effectué sur 10 cm en cuve non saturée, durant trente à quarante minutes.

1° SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE :

Dihydroxy-1,8 anthraquinone Fluka;
Franguline (= émodol-rhamnoside) Carl Roth;
Emodol, par hydrolyse du précédent;
Rhéine, par hydrolyse oxydative des sennosides A et B;
chrysophanol, physcion, rhéine, émodol, aloeémodol, obtenus au laboratoire à partir de racines de Rumex obtusifolius L. et de rhizomes de Rheum palmatum var. tanguticum L.

2° DÉVELOPPEMENT ET R_F DANS LE (4:1) DE QUELQUES HYDROXYANTHRAQUINONES :

Aloeémodol (0,12-0,15); émodol (0,23-0,26); rhéine (0,34-0,37); physcion (0,71-0,75); dihydroxy-1,8 anthraquinone (0,76-

0,80); chrysophanol (0,82-0,85). Toutes ces génines forment des taches jaunes, à fluorescence orange sous la longueur d'onde 366 nm. Elles se colorent en rouge violacé après pulvérisation d'alcali. Notons d'autre part que les sennidines A et B, de fluorescence rouge sombre, migrent à R_F 0,08-0,10. L'alizarine (dioxy-1,2 anthraquinone) et la santaline (dihydroxy-1,3 méthoxy-2 tétrahydroanthraquinone) restent au point d'application.

3° APPLICATION AUX SÉNÉS OFFICINAUX DE LA MÉTHODE DICHOTOMIQUE ET DU (4:1) :

- La fraction 1 des génines libres donne deux taches : aloeémodol et rhéine.

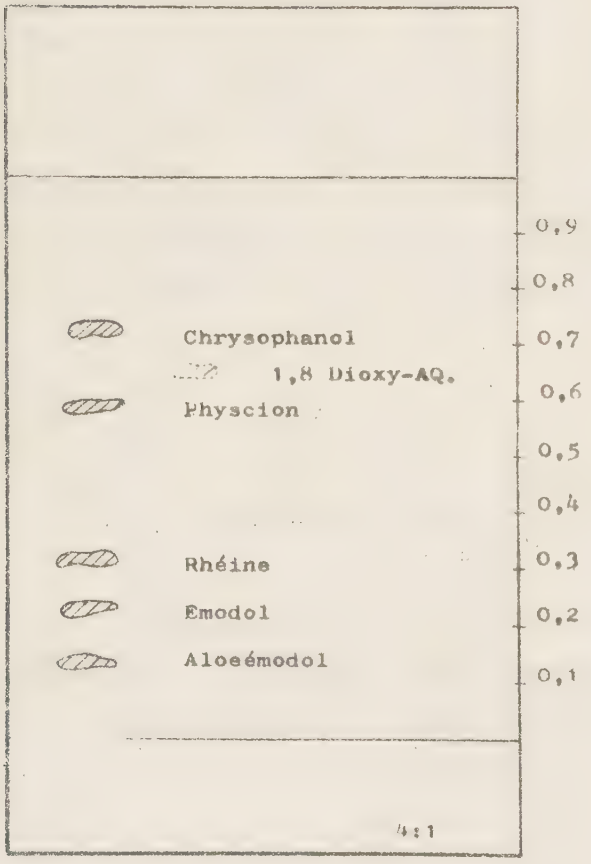


Fig. 2

- La fraction 2 des génines totales donne trois taches : sennidines, aloeémodol et rhéine.
- La fraction 3 non rhéinique donne une tache : aloeémodol.
- La fraction 4 rhéinique donne deux taches : sennidines et rhéine.
- La fraction 5 des génines oxydées donne deux taches : aloeémodol et rhéine.

Ces résultats, établis à l'aide d'échantillons récents du commerce et de bon aloi, permettent d'affirmer la présence d'aloeémodol et de rhéine libres en petite quantité dans les folioles des Sénés officinaux. Nous y déce-

lons également les glucosides d'aloeémodol et de rhéine, ainsi que les sennosides classiques.

Pour un Cassia dont on veut déterminer la composition qualitative, une C.C.M. dans le (4:4:3) donnera des indications sur les hétérosides dont la nature sera précisée par la méthode dichotomique.

4° ANALYSE DANS LE (4:1) DES SPOTS HÉTÉROSIDIQUES APRÈS HYDROLYSE SUR GEL DE SILICE :

Pour identifier une tache d'hétéroside anthraquinonique après développement dans le (4:4:3), sa génine peut être déterminée comme suit : on délimite le contour du spot hétérosidique grâce à sa fluorescence. On collecte le gel de la zone repérée. On le traite par 10 ml HCl à 25 % au bain-marie pendant quinze à vingt minutes. Après refroidissement, la solution est épuisée par 10 ml d'éther. La couche éthérée, séchée sur sulfate de sodium, est concentrée à 1 ml puis chromatographiée dans le (4:1) auprès des génines de référence. Donc l'hydrolyse peut être effectuée directement sur le gel sans élution préalable par aucun solvant.

5° ANALYSE SPECTROMÉTRIQUE

Bien entendu, les conclusions de la C.C.M. peuvent être recoupées par le spectre des différentes fractions purifiées de l'analyse, en suivant les techniques établies depuis AUTERHOFF [34]. Cependant, la sensibilité de la fluorescence des taches, lors de la C.C.M., est de loin supérieure à celle des méthodes spectrales. Les spectres sont obtenus avec un appareil Beckman DB en double faisceau et une épaisseur de cuve de 1 cm.

6° DISCUSSION DES RÉSULTATS

Désirant éprouver la valeur de notre méthode, nous avons fait des extractions dans les conditions optimales, c'est-à-dire en épuisant systématiquement au Soxhlet une poudre de folioles de C. angustifolia par les solvants successifs suivants : éther de pétrole, chloroforme, éther, acétate d'éthyle, acétone, éthanol

absolu, alcool à 50° et terminant par une décoction aqueuse. Ces fractions ont été chromatographiées dans le (4:4:3), puis les génines libres et les hydrolisats des hétérosides dans le (4:1). Les images chromatographiques sont qualitativement les mêmes par l'une ou l'autre méthode. Tous les constituants présents dans l'ensemble des extractifs au Soxhlet ont été retrouvés par la méthode dichotomique proposée.

Conclusions

1° Le solvant (4:4:3) de HÖRHAMMER et ses collaborateurs est excellent pour la chromatographie analytique, en couche mince, des dérivés anthracéniques des Sénés. Il sépare tous les constituants hétérosidiques et la rhéine.

2° Son application aux Sénés, telle qu'elle est proposée par la Pharmacopée européenne, peut être utilement complétée par l'examen de la fluorescence des taches et diverses réactions de révélation. Cette technique très rapide s'avère toutefois insuffisante pour l'identification de certaines espèces du genre Cassia, notamment en ce qui concerne l'extraction de principes caractéristiques.

3° Dans le but non seulement d'obtenir une image chromatographique caractéristique d'un Cassia donné, mais de déterminer la nature de chacun de ses constituants, une méthode d'analyse dichotomique, utilisant la C.C.M., est élaborée avec l'intention qu'elle soit plus rapide que la méthode classique d'épuisements successifs au Soxhlet et d'étude chromatographique sur papier.

4° Un pouvoir séparateur élevé des hydroxyanthraquinones, nécessaire pour identifier les aglucones naturels, ainsi que les génines libérées par hydrolyse, est obtenu en C.C.M. avec le mélange n-hexane-acide acétique (4:1).

TROISIEME PARTIE

Recherches personnelles :

application à d'autres espèces de Cassia.

Chapitre I.- APPLICATION au CASSIA OBOVATA Coll. (folioles)

Le Cassia obovata Coll. (C. aschrek Forsk.) fut probablement la première espèce de Cassia introduite en Europe. Il fut cultivé en Italie pendant la première moitié du 16e siècle pour l'usage médical et dénommé "Séné d'Italie". Très répandu en Egypte, Arabie, Abyssinie, il était désigné sous le nom de "Séné d'Alep". Plus récemment, il a été fourni par le Haut-Sénégal et la Mauritanie.

E. MAURIN [2] dosa la quantité totale de dérivés anthracéniques : les folioles en renferment une teneur de 1,10 % et les fruits de 1,20 %. Les gousses ont donc une teneur voisine de celles du C. angustifolia. C'est une des raisons pour lesquelles le C. obovata était inscrit aux VIe et VIIe éditions de la Pharmacopée française.

Par l'analyse chimique, A. HIFNY SABER, S.I. BALBAA et A.T. AWAD [35] ont mis en évidence :

- des génines libres : rhéine, aloeémodol, aloeémodol-anthrone, sennidines et des traces de chrysophanol.
- des hétérosides : sennosides A et B et un troisième hétéroside non rhéinique.

*
* *

Sur du matériel provenant du commerce et sur des plantes récoltées dans l'Adrar Mauritanien en octobre 1952 par le Professeur P. JAEGER sous le nom de C. aschrek, nous avons voulu confirmer ces résultats :

L'image chromatographique dans le (4:4:3) d'un décocté de folioles avant et après révélation est rigoureusement identique à celles des C. acutifolia et angustifolia. Ajoutons donc aux résultats de A. HIFNY SABER que nous mettons de plus en évidence : du rhéine-glucoside, de l'aloeémodol-dianthrone-diglucoside et des flavonoïdes (kaempférol notamment).

Il nous semble donc que l'assertion de E. STEINEGGER et R. HÄNSEL dans leur Lehrbuch [36] au sujet des Cassia setigera D.C. et obovata Coll. : "Sie sind frei von Anthrachinonen", fondée sur des travaux antérieurs, soit à réviser, et que les folioles du C. obovata aient une action purgative analogue à celle des Sénés officinaux.

Chapitre II.- APPLICATION au CASSIA NIGRICANS Vahl. (folioles)

Herbacée d'Afrique tropicale et d'Asie, répandue du Sénégal à l'Abyssinie et de l'Arabie à l'Inde, les folioles de cette espèce ont une action purgative [37].

Une seule mention sur sa composition chimique a été faite par P. DUQUÉNOIS [3]. Les folioles, les tiges et les fruits renferment de 0,10 à 0,68 % d'anthraquinones libres et de 0,35 à 0,75 % d'osides; l'activité pharmacologique de ces organes serait moyenne.

*
* *

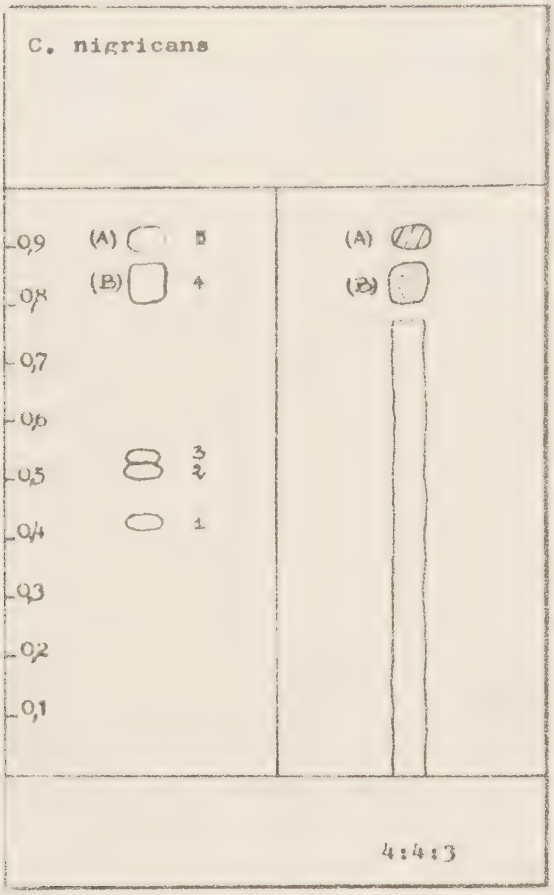
1) MATÉRIEL :

L'échantillon de C. nigricans a été récolté par le Professeur P. JAEGER en octobre 1951, au bord d'une route, dans le massif de Kita (environs de Bamako), vaste plateau de 500 m d'altitude en République du Mali.

2) SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE :

- émodol
  - échantillon du Laboratoire de Matière médicale de Strasbourg,
  - échantillon obtenu par hydrolyse de la "franguline" (émodol-rhamnoside)
- émodol-anthrone :
  - préparée par réduction d'une solution acétique d'émodol en présence de Cl_2Sn chlorhydrique, selon la méthode de E.J. CROSS et A.G. PERKIN [38].

3) C.C.M. DANS LE (4:4:3) DE L'EXTRAIT TOTAL :



{C.C.M. de gauche : Fluorescence UV 366 nm.

{C.C.M. de droite : Couleurs après KOH.

Fig. 3

Tableau II

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm.	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
	0-75	traînée sombre	traînée brun rosé	/
1	42-44	bleu ciel	/	bleu
2	50-52	jaune soufre	/	jaune
3	52-55			
4	80-87	jaune vif ou orangé	jaune puis violet	jaune très brillant
5	89-93	orangé	rose	orangé

4) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

La méthode dichotomique est considérablement simplifiée pour ce cas particulier du fait que les constituants chimiques appartiennent à une filiation homogène.

Les développements chromatographiques des différentes fractions, effectués sur l'échantillon non stabilisé dont nous disposions, ne font apparaître que des génines dérivant de l'émodol, à l'exclusion des hétérosides correspondants.

Caractérisation des génines anthracéniques libres :

L'analyse chromatographique sur couche mince dans le (4:1) de la fraction éthérée montre la présence d'émodol (A) libre caractérisé par :

- son R_F 0,23-0,26
- sa fluorescence orangée
- sa couleur rose à la lumière du jour après pulvérisation de KOH alcoolique
- son spectre UV.

Elle met également en évidence un constituant abondant (B), de fluorescence orangé, jaune puis violet après KOH et de fluorescence jaune brillant en milieu alcalin ou en présence de $AlCl_3$. Cette substance (B) reste au point d'application dans le (4:1). Après oxydation rapide de 10' de cette fraction éthérée 1 par le $FeCl_3$, on n'observe qu'une seule tache d'émodol, alors qu'une oxydation de 2 heures conduit à des produits de dégradation de fluorescence rouge.

5) COMPLÉMENT D'ÉTUDE ET DISCUSSION :

Afin de mieux caractériser le composant (B), mêlé à l'émodol dans cette fraction éthérée, nous avons tenté de le séparer. Pour cela nous avons épuisé systématiquement au Soxhlet des folioles de C. nigricans par l'éther de pétrole, le chloroforme, l'éther, l'acétate d'éthyle, l'acétone, l'alcool à 100°, l'alcool à 50°.

La C.S.P. dans le (4:1:5) donne la même disposition des

taches que sur plaque et les R_F sont trop voisins : 0,93 pour l'émodol (A) et 0,80 pour (B). Il en est de même pour le n-butanol-acide acétique-eau (6:1:2).

Par contre, dans l'acide acétique à 15 %, l'émodol possède un R_F nul et la substance (B) 0,64.

Nous avons donc chromatographié sur colonne de cellulose Whatman CF 11. Au sommet de la colonne est déposée la fraction éthérée 1; l'élution est faite par l'acide acétique à 15 %. Une première zone, constituée par le composant (B), de fluorescence orange intense, se détache instantanément. Elle est complètement éluée alors que la zone (A) de fluorescence jaune n'a pas encore migré.

L'éluat (B) est épuisé par 4 fois 15 ml d'éther jusqu'à ce que la solution aqueuse ne présente plus de fluorescence orangée. L'éther, lavé à l'eau distillée, puis séché sur SO_4Na_2, est évaporé au B.M. puis repris par de l'éthanol à 100°. La C.S.P. dans les différents solvants précités redonne les mêmes R_F de (B) sans trace d'autre produit. L'élution de la zone (A) est poursuivie avec de l'acide acétique à 50 %. L'éluat (A) est traité de la même manière que (B).

a) Etude de l'éluat (B) :

- Un peu de solution (B) est déposée sur papier filtre. La tache est révélée au moyen de KOH alcoolique. La coloration passe du jaune au violet après quelques instants (il peut s'agir d'une anthrone jaune à KOH qui, instable en milieu alcalin, s'oxyde en anthraquinone avec réaction de Borntraeger).
- La chromatographie sur papier préalablement imprégné d'une solution à 5 % de CO_3Na_2, effectuée dans l'éthanol à 70° selon H. AUTERHOFF et F.C. SCHERFF [34], ne montre aucune tache au point d'application, ce qui exclut une dianthrone. Au R_F 0,69 on observe une tache violet intense d'émodol. En effet, en milieu alcalin, (B) s'est oxydé en émodol.
- Pour confirmer cette expérience, nous avons agité un peu de solution (B) après en avoir chassé l'alcool, avec 20 ml de NaOH à 10 %. La solution prend une teinte rouge pourpre.

On ajoute quelques gouttes de soluté d'eau oxygénée à 10 volumes pour parfaire l'oxydation de l'anthrone en anthraquinone et agite fréquemment. Après avoir réacidulé par HCl, on extrait à l'éther et on chromatographie dans le (4:1) et les autres solvants. On observe une tache : celle de l'émodol.

- Le spectre UV de la solution (B) présente 3 maximums d'absorption à :

  220 nm.
  255 nm.
  272 nm.
  355 nm.

  caractéristiques de l'absorption de l'émodol-anthrone.

- Le spectre UV de la solution (B) après oxydation en milieu alcalin est celui de l'émodol avec les maximums d'absorption à 222 nm., 252 nm., 265 nm., 289 nm., 437 nm.
  Ces diverses expériences démontrent la présence d'émodol anthrone libre dans les folioles du C. nigricans.
- Le R_F de (B) est nul dans le (4:1) comme celui de l'émodol anthrone de référence préparée au laboratoire.

b) Etude de l'éluat (A) :

Cet éluat donne un spectre identique à celui de l'émodol; les taches dans les solvants habituels ont le même R_F que l'émodol témoin.

Autres substances non anthracéniques du C. nigricans :

Une leucoanthocyanne probablement voisine du chromogène leucoanthocyanique du C. auriculata et de celui découvert par PARIS et ÇUBUKÇU [39] dans le C. goratensis Fres à pu être observée.

- Sur une foliole de C. nigricans, dont la couleur est orangée, ajoutons 1 à 2 gouttes d'HCl ou d'H_2SO_4 concentré. Il se produit instantanément une coloration rouge intense. En milieu acide, la leucoanthocyanne incolore est transformée en anthocyanne rouge : c'est la réaction proposée par la VIII^e édition de la Pharmacopée française pour déceler la falsification d'une poudre de Séné officinal par du Cassia auriculata.
- En épuisant une poudre de C. nigricans au Soxhlet par des

solvants de plus en plus polaires, une coloration rouge intense apparaît à partir de l'extrait éthéré, puis dans l'acétate d'éthyle, l'acétone et l'alcool à 100°. Elle n'est pas visible dans l'éther de pétrole ni dans le chloroforme. Le leucodérivé brut, obtenu à partir de l'extrait dans l'acétate d'éthyle présente une bande d'absorption intense à 280 nm., maximum caractéristique de la plupart des leucoanthocyannes.

Divers autres constituants ont pu être caractérisés à partir de l'extrait à l'acétate d'éthyle ou alcoolique. Par C.S.P. dans le (4:1:5) on observe 3 autres taches :

Tableau III

R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm.	Fluorescence après NH_3	Fluorescence après $AlCl_3$
26	violine	violine jaunâtre	violine
34	bleu	vert-jaune	bleu ciel
42	violine	jaune soufre	jaune soufre

La tache de R_F 0,42 est vraisemblablement un hétéroside de flavonoïde.

Conclusion

Les folioles non stabilisées du *C. nigricans* Vahl renferment de l'émodol et de l'émodol-anthrone; une leucoanthocyanne a pu également être mise en évidence.

Ses applications empiriques fort diverses en font un fébrifuge et un stimulant de l'appétit. Mais les dérivés anthracéniques présents font estimer l'infusion de ses folioles comme purgatif.

Chapitre III.- APPLICATION au CASSIA PODOCARPA Guill. et Perr. (folioles et gousses)

Le Cassia podocarpa est un arbuste, principalement répandu en Afrique (Sénégal, Sierra Leone, Libéria, Nigeria), dont les folioles sont employées comme purgatifs dans ces pays.

Pourtant la bibliographie concernant cette espèce est relativement réduite. Un travail détaillé sur la morphologie a été publié en 1948 par R. PARIS et J. CHARTIER [40]. En 1959, P. DUQUÉNOIS confirma la valeur du C. podocarpa et trouva jusqu'à 2,5 % d'osides totaux dans les feuilles et les fruits [3].

*

* *

1) MATERIEL :

Il a été récolté par le Professeur P. JAEGER en octobre 1951 dans le Massif de Kita, au lieu dit "Kitaba".

2) SUBSTANCES DE REFERENCE :

- Sennosides B et A des Laboratoires Sandoz respectivement de R_F 0,10-0,12 dans le (4:1) et de 0,19-0,22 dans le (4:4:3).
- Sennidines A et B de R_F 0,49-0,51 dans le (4:4:3), obtenues par hydrolyse des sennosides avec HCl à 25 % 15' au BM et extraction par l'éther.
- Rhéine de R_F 0,52-0,54 dans le (4:4:3) et de R_F 0,34-0,37 dans le (4:1); en prolongeant l'hydrolyse pendant 60 min. ou après oxydation au BM par $FeCl_3$ 15 min., la molécule de sennidine est scindée en rhéine anthrone puis oxydée en rhéine.
- Rhéine-8 glucoside de R_F = 0,35-0,39 dans le (4:4:3). Préparé par oxydation des sennosides A ou B en présence de $FeCl_3$ en milieu neutre au BM. Il se forme environ 33 % de rhéine et 67 % de rhéine-8 glucoside. Ce sont les proportions estimées par LEMLI [27] en dosant la rhéine formée après oxydation

simple puis après hydrolyse oxydative dans les préparations galéniques. Nous avons cherché à extraire le rhéine-8 glucoside. Il est insoluble dans l'éther ou le chloroforme. Il ne peut être extrait par l'éthanol qui serait miscible à la solution aqueuse. Des essais préliminaires d'extraction au Soxhlet du rhéine-8 glucoside présent dans le C. angustifolia nous avaient révélé sa solubilité dans l'acétate d'éthyle. C'est pourquoi nous épuisons la solution de $FeCl_3$ d'une part au moyen du chloroforme pour éliminer la rhéine libre, et d'autre part au moyen d'acétate d'éthyle pour solubiliser le rhéine glucoside.

- Rhéine-anthrone-glucoside de R_F = 0,33-0,36 dans le (4:4:3).

Nous utilisons un mélange de rhéine-anthrone-glucoside et de rhéine-8 glucoside obtenu par décomposition d'une solution de sennosides A ou B dans l'alcool à 70°. Après plusieurs semaines de conservation d'une telle solution, la fonction glucosidique en 8 n'est pas touchée, mais la liaison C-C en 10-10' est rompue pour donner naissance au rhéine-anthrone-glucoside et à son produit d'oxydation le rhéine-glucoside.

3) C.C.M. DANS LE (4:4:3) DE L'EXTRAIT TOTAL :

Les solutions extractives hydroalcoolique et aqueuse donnent des images identiques : on retrouve 7 taches :

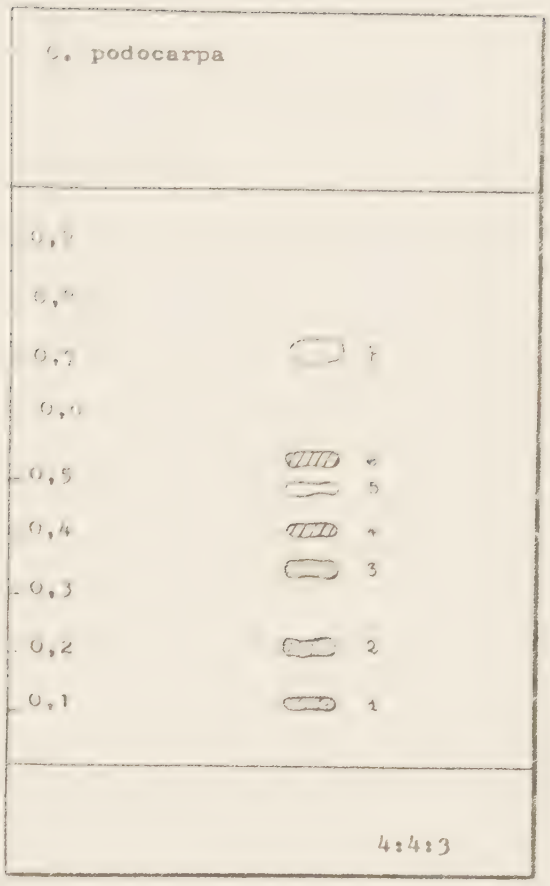


Fig. 4

Tableau IV

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm.	Couleur après KOH	Couleur après HNO_3 puis KOH
1	10-12	rouge sombre	jaune	brun-pourpre
2	19-22	rouge sombre	jaune	brun-pourpre
3	33-36	rouge sombre	jaune	brun-pourpre
4	39-42	rouge-orangé	rose violacé	rose violacé
5	47-49	jaune	jaune	jaune
6	52-54	rouge-orangé	violacé	violacé
7	70-74	bleu	/	/

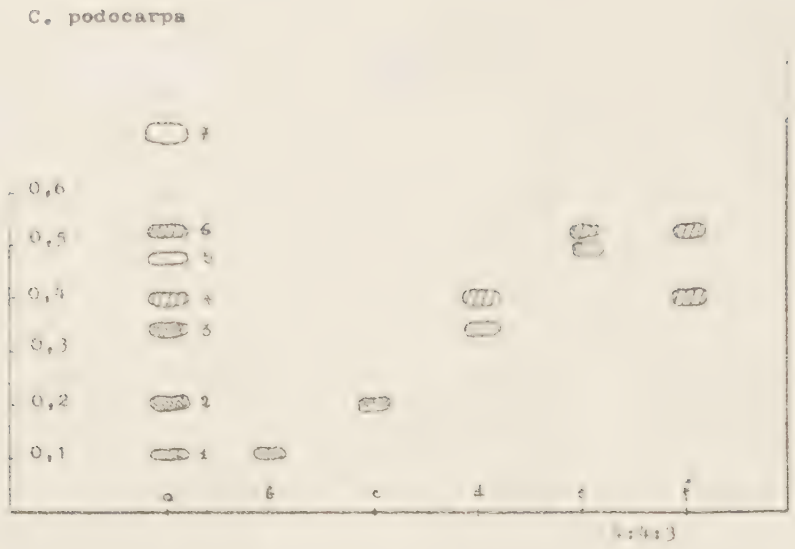


Fig. 5

Légende :

a : décocté hydroalcoolique ou aqueux
b : sennoside B
c : sennoside A
d : mélange rhéine-anthrone-glucoside + rhéine-glucoside
e : sennidines A et B + rhéine
f : rhéine-glucoside + rhéine

Conclusions :

- tache 0,10-0,12 : - R_F identique au sennoside B
  - l'hydrolyse oxydative de la tache fixée sur le gel conduit à la rhéine
  - le tableau IV indique une forme anthrone
- tache 0,19-0,22 : - Propriétés identiques à la tache précédente mais R_F identique au sennoside A
- tache 0,33-0,36 : - R_F identique au rhéine-anthrone-glucoside
  - le tableau IV indique une forme anthrone
- tache 0,39-0,42 : - R_F identique au rhéine-glucoside
  - l'hydrolyse oxydative de la tache fixée sur le gel conduit à la rhéine

- le tableau IV indique une forme anthraquinonique

- tache 0,47-0,49 : - vraisemblablement identique à la tache de même R_F dans C. angustifolia

- tache 0,52-0,54 : - R_F identique à la rhéine
  - le tableau IV indique une forme anthraquinonique

- tache 0,70-0,74 : inconnu.

4) RESULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- La fraction 1 des génines libres contient de la rhéine de R_F 0,52-0,54 dans le (4:4:3) et de 0,34-0,37 dans le (4:1).
- La fraction 2 des génines hétérosidiques montre la présence de sennidines A et B (fluorescence rouge sombre, jaune après KOH, brun-pourpre après HNO_3 puis KOH) de R_F = 0,49-0,51 dans le (4:4:3) et 0,08-0,10 dans le (4:1) et de rhéine.
- La fraction 3 ne contient aucun constituant. Il n'y a donc pas de dérivé non rhéinique.
- La fraction 4 des génines rhéiniques renferme surtout la rhéine et un peu de sennidines car elles sont altérées en milieu alcalin.
- La fraction 5 des génines oxydées après hydrolyse ne renferme que la rhéine.

5) INTERPRETATION DES RESULTATS ET DISCUSSION :

D'après ces résultats, tous les dérivés anthracéniques du C. podocarpa sont rhéiniques, c'est-à-dire qu'ils possèdent un carboxyle en position 3. Par hydrolyse oxydative on n'observe qu'un seul spot de rhéine; donc ces composants donnent tous naissance à de la rhéine.

D'après le schéma de la C.C.M. dans le (4:4:3)(fig. 4 et 5) et l'interprétation des résultats de l'analyse dichotomique des folioles, nous pouvons déceler les composants suivants :

- le sennoside B
- le sennoside A
- le rhéine -anthrone-glucoside
- le rhéine-glucoside
- un flavonoïde
- la rhéine libre
- une substance inconnue.

Les résultats concernant les gousses du C. podocarpa sont qualitativement identiques. Toutefois la teneur des folioles en sennoside B semble supérieure à celle du sennoside A. Les gousses renferment, au contraire, plus de sennoside A que de B.

*
* *

Conclusion

Les folioles et les gousses du C. podocarpa sont assez riches en dérivés rhéiniques puisqu'elles renferment :

- les sennosides A et B,
- le rhéine-anthrone-glucoside,
- le rhéine-glucoside,
- la rhéine.

D'ailleurs l'image chromatographique est presque identique à la partie du chromatogramme du C. angustifolia renfermant les substances physiologiquement actives. C'est pourquoi nous pouvons préjuger de la bonne activité purgative de ce Cassia puisque les sennosides A et B, principes majeurs de l'action pharmacologique, y sont présents. Ceci explique l'usage empirique de ces organes comme purgatif dans la thérapeutique africaine.

Chapitre IV.- APPLICATION au CASSIA SIEBERIANA D.C. (folioles)

Le Cassia sieberiana D.C. est un arbre très décoratif des savanes densement boisées d'Afrique tropicale dont la racine est utilisée à faible dose comme purgatif mais considérée comme toxique à haute dose. L. VIGNOLI et J. BALANSARD [41], en 1940, signalèrent dans cette racine la présence d'anthraquinones et de tanins. R. TAYLOR-SMITH [42] en 1966 en isola du β-sitostérol; R. PARIS et S. ETCHEPARE en 1967 [43] du l-épicatéchol et du leucopélargonidol.

Les folioles n'ont fait l'objet que d'une mention de B. ÇUBUKÇU [21] qui a caractérisé des dérivés flavoniques par une coloration orangée dans la réaction de la cyanidine et des tanins catéchiques condensés; un échantillon d'herbier, récolté en septembre 1951 par Monsieur le Professeur P. JAEGER dans des forêts sèches du Massif du Kita (République du Mali) fut mis à notre disposition afin d'en entreprendre l'étude.

*
* *

1) SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE :

- échantillons d'anthraquinones (notamment rhéine et rhéine-8 glucoside) préparés au laboratoire à partir des sennosides A et B)
- échantillons de divers flavonoïdes. Principalement :
  - . extraction d'un mélange de rutoside (quercétol-3-glucorhamnoside) et de quercitrin (quercétrol-3-rhamnoside) à partir d'une solution hydroalcoolique de poudre d'écorce de Quercus tinctoria Michx (chêne quercitron)
  - . préparation d'isoquercitrin (quercétol-3-glucoside) à partir de la rutine par la méthode de A. SPADA et R. CAMERONI [44]
  - . préparation du quercétol par hydrolyse acide de la rutine.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) DE L'EXTRAIT GLOBAL :

Le chromatogramme présente 7 taches :

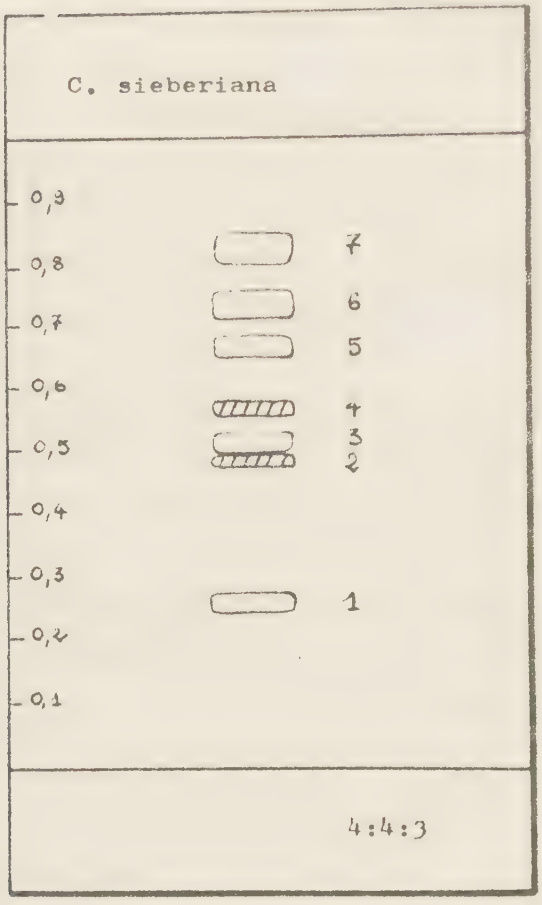


Fig. 6

Tableau V

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm.	Couleur après KOH	Fluorescence UV 366 nm. après $AlCl_3$
7	80-85	bleu ciel		bleu ciel
6	70-76	brun-violine	jaune	jaune vif
5	65-69	brun sombre	jaune	jaune-brun
4	55-58	rouge-orangé	rouge violacé	orangé
3	53-55	jaune	jaune	jaune
2	48-50	rouge-orangé	rouge violacé	orangé
1	25-28	bleu ciel		bleu ciel

Les colorations après révélation avec KOH d'une part, après traitement à HNO_3 puis à KOH d'autre part, sont identiques; ceci indique que l'échantillon analysé ne doit pas contenir de formes anthrones.

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

Cette analyse, intéressante dans le cas de génines multiples, est très simplifiée puisque dans le système hexane-acide acétique (4:1) nous mettons en évidence :

- dans la fraction 1 des génines libres : la rhéine de R_F 0,34-0,37.
- dans la fraction 2 des génines totales après hydrolyse : la rhéine également.
- dans la fraction 3 des génines non rhéiniques aucun constituant n'apparaît.
- dans la fraction 4 des dérivés rhéiniques : la rhéine.
- enfin dans la fraction 5 des génines oxydées après hydrolyse : la rhéine, puisqu'elle est au dernier stade de l'oxydation dans l'échantillon étudié.

L'échantillon de Cassia sieberiana D.C. montre donc la présence de rhéine libre de R_F 0,55-0,58 dans le (4:4:3) et de R_F 0,34-0,37 dans le (4:1) ainsi que de rhéine-8-glucoside de R_F 0,48-0,50 dans le (4:4:3), identifié comme tel par comparaison à un témoin.

4) ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE : CARACTÉRISATION DES CONSTITUANTS PRINCIPAUX :

Parmi les épuisements au Soxhlet des folioles pulvérisées du C. sieberiana par des solvants de plus en plus polaires, celui effectué au moyen d'alcool absolu a été retenu, car il renferme tous les constituants.

a) Dans un infusé aqueux de C. sieberiana, nous avons mis en évidence :

- une leucoanthocyanne :

Celle-ci est caractérisée par la coloration rouge cerise qui se développe après addition d'un volume égal d'HCl concentré

et chauffage 3 min. au BM. Les diverses génines libérées sont extraites à l'éther tandis que le pigment rouge, constitué par l'anthocyanidine, est extrait par le pentanol-1. Après lavage par une solution d'HCl à 1 % et addition d'un excès de benzène, le pigment est extrait par un très petit volume d'HCl 1 %.

Une partie de cette solution est agitée avec un égal volume d'un mélange de cyclohexanol-toluène (1:5). L'anthocyanidine ne passe que très faiblement dans la phase organique (elle devrait passer totalement dans le cas de la pélargonidine).

L'autre partie de la solution aqueuse est additionnée d'un demi volume de solution aqueuse de NaOH à 10 %, puis acidifiée immédiatement par HCl concentré. L'extraction par le pentanol-1 ne régénère pas la coloration initiale.

Le spectre montre une bande d'absorption à 540 ± 3 nm accompagnée d'une forte bande à 270 nm qui sont caractéristiques d'une anthocyanidine avec la leucoanthocyanne primitive non dégradée. La bande à 540 nm ne se déplaçant pas en présence de $AlCl_3$, l'anthocyanidine n'a donc pas deux -OH en ortho, ce qui exclut : lutéolinidine, cyanidine, delphinidine et pétunidine. La λ max. de la bande des anthocyanidines à 540 nm peut être interprétée comme celle de la pélargonidine (que les réactions in vitro semblent d'ailleurs exclure) λ max. 535, 435, 270 nm ou de la péonidine λ max. 549, 448, 276 nm.

Diverses C.S.P. ont été effectuées, mais l'anthocyanidine, substance très labile, n'a pu être identifiée.

b) L'extrait alcoolique a été chromatographié sur plaque préparative de gel de silice, dans le (4:4:3). Les bandes de gel collectées ont été ensuite réépuisées par de l'alcool à 95°. Dans les éluats ainsi obtenus, nous avons trouvé :

- <u>des tanins catéchiques</u> (éluat T) en faible quantité.

Ceux-ci sont vraisemblablement localisés à un R_F de 0,65-0,70 dans le (4:4:3), ce spot donnant une intense

coloration vert-brun foncé par le $FeCl_3$. L'éluat T, déposé sur plaque, donne une teinte brun-violet par pulvérisation d'une solution alcoolique d'$AlCl_3$ à 5 %, et une coloration bleu-vert par une solution d'acide phosphomolybdique à 3,5%; une solution d'$AgNO_3$, après chauffage, produit une couleur brune. La réaction de STIASNY, distinctive des tanins galliques et catéchiques, conduit à un précipité brun-gris.

- <u>des flavonoïdes</u> (éluat F) : quercétol-glucoside et quercétol-rhamnoside de R_F 0,70-0,76 dans le (4:4:3).

La réaction de la cyanidine ayant produit une coloration rose, l'éluat F a été chromatographié dans divers solvants en C.S.P. et en C.C.M., comparativement à des témoins. Ces chromatographies ont révélé l'existence de deux hétérosides flavoniques ayant une génine commune. Celle-ci a été identifiée au quercétol d'après ses R_F, les fluorescences directes et après révélation par $AlCl_3$ et CO_3Na_2, et son spectre.

Nous avons groupé les résultats concernant la génine et ses hétérosides dans le tableau suivant, comparativement à ceux donnés par HARBORNE [45].

Tableau VI

Solvants ⟶	4 : 1 : 5		H_2O		CH_3COOH 15 %		R_t
Flavonoïdes ↓	R_F Harborne	R_F trouvés	R_F Harborne	R_F trouvés	R_F Harborne	R_F trouvés	
Génine et quercétol témoin	0,64	0,59	0	0	0	0	
1er Flavonoïde et quercitrin témoin	0,72	0,72	0,19	0,18	0,49	0,50	64
2ème Flavonoïde et isoquercitrin témoin	0,58	0,58	0,09	0,09	0,37	0,38	76
Rutine témoin	0,45	0,45	0,23	0,24	0,51	0,53	54,7

La première ligne du tableau concerne les R_F en chromatographie ascendante sur papier Whatman n° 1 dans le butanol-1-acide acétique-eau (4:1:5), dans l'eau et dans l'acide acétique à 15 %. Une confirmation de l'identité de la génine avec le quercétol est donnée par la C.C.M. dans le système toluène-chloroforme-acétone (40:25:35) où le R_F est de 0,27. La fluorescence jaune très pâle vire au jaune franc par les vapeurs d'NH_3, et au jaune-vert par pulvérisation d'$AlCl_3$. Le spectre direct de la génine remise en solution éthanolique de l'éluat F, présente deux bandes d'absorption à 372 nm et à 256 nm et une forte inflexion vers 299 nm ainsi qu'un épaulement à 269 nm. Ce spectre est compatible avec celui du quercétol. L'action de $AlCl_3$ produit un déplacement bathochrome des deux bandes. Le maximum à 372 nm subit un transfert à 430 nm et il apparaît une légère inflexion vers 355 nm. Le maximum à 256 nm et l'épaulement à 269 nm sont remplacés par un maximum à 268 nm et un maximum moins élevé vers 307 nm.

Ces modifications indiquent qu'il s'est formé un complexe flavylium caractéristique de la présence d'un -OH libre en position 3 ou 5. L'important déplacement subi par la bande I (+ 60nm) montre que l'un de ces substituants est certainement en 3.

L'ionisation par l'acétate de sodium est manifeste (très forte coloration jaune). L'effet bathochrome fait passer la bande I à 384 nm, soit un déplacement de +14 nm, ce qui indique la présence d'-OH libres en 3' et en 4'. La bande II se dédouble et le déplacement traduit la présence d'un OH libre en 7.

L'addition d'acide borique n'amène qu'une décoloration incomplète, la bande I ayant son maximum à 382-383 nm ce qui indique deux -OH libres en ortho.

Toutes ces déterminations sont compatibles avec la structure quercétol de la génine.

D'autre part l'examen du tableau montre que le premier flavonoloside a un R_F dans le solvant de Partridge supérieur à celui du quercétol. On sait que les rhamnosides font exception à la règle et qu'ils migrent plus haut que la génine dans ce mélange solvant. Le second flavonoloside a un R_F nettement inférieur à

celui du quercétol, mais supérieur à celui du rutoside.

Enfin, pour ce qui concerne les hétérosides, nous avons calculé le rapport :

$$R_t = 100. \frac{R_F \text{ dans acide acétique 15 \%} - R_F \text{ dans eau}}{R_F \text{ dans acide acétique 15 \%}}$$

Ce rapport est de 73± 10 pour un monohétéroside; celui d'un dihétéroside est de 51± 7, et celui d'un trihétéroside de 33± 10, d'après SOSA-BOURDOUIL C., SOSA A. [46].

Les valeurs trouvées (dernière colonne du tableau) pour les premier et deuxième flavonoïdes du C. sieberiana, dont les R_F sont identiques à ceux du quercitrin et de l'isoquercitrin, s'accordent effectivement avec celles de monohétérosides. La fluorescence directe des deux flavonolosides sur le papier est brun-violine. Après action des vapeurs d'NH_3, les taches jaunes en lumière visible présentent une fluorescence ocre clair. Cette fluorescence vire au jaune-vert par pulvérisation d'une solution d'$AlCl_3$. Ces constatations font présumer qu'il s'agit d'hétérosides du quercétol en position 3.

D'après les C.S.P. dans les divers solvants, le premier flavonoïde serait le quercitrin et le deuxième l'isoquercitrin. Ceci a été confirmé par C.C.M. dans le système acétate d'éthyle-méthyléthylcétone-acide formique-eau (5:3:1:1) où ils ont respectivement pour R_F 0,62 et 0,51 identiques à ceux des témoins.

Pour l'identification des sucres présents dans l'éluat F, la C.C.M. a été utilisée sur plaques de gel de silice prêtes à l'emploi. Le système solvant employé contient : méthyléthylcétone-acide acétique-méthanol (3:1:1). La couleur des taches est notée après révélation par le réactif à l'aldéhyde anisique sulfurique selon la technique habituelle [18]. Seuls le rhamnose et le glucose sont décelés. Ce dernier est confirmé par la réaction de COMER [47].

Comme nous avons deux monohétérosides du même flavonol et que l'hydrolyse ne libère que le rhamnose et le glucose, on peut présumer avec plus de certitude encore que nous avons affaire au

quercétol-3-monoglucoside (isoquercitrin) et au quercétol-3-monorhamnoside (quercitrin).

Sur le matériel minime que représente une planche d'herbier, il n'a pas été possible d'effectuer des dosages de sucres. Par contre, pour apporter une preuve de la structure des deux hétérosides, l'étude spectrale a été entreprise sur l'éluat F; on y est autorisé par le fait que le quercitrin et l'isoquercitrin ont même spectre et par conséquent leur mélange également. Celui-ci se présente comme une flavone tétrahydroxylée du type lutéoline : Max. λ = 257 nm et 359 nm, ce qui montre que l'-OH en 3 n'est pas libre dans ces deux flavonoïdes. Par addition de $AlCl_3$, le déplacement des bandes I et II avec dédoublement de la bande I : Max. λ = 270, 359 et 400 nm indique que l'-OH en 5 est libre. Un -OH libre en 7 est révélé par l'effet ionisant de l'acétate de sodium : Max. λ = 270, 375 nm. Enfin deux -OH libres doivent exister en ortho d'après le spectre donné par addition d'acide borique à la solution précédente avec acétate : Max. λ = 265, 370 nm.

En outre, l'hydrolyse par la β-glucosidase pure d'amande a libéré du quercétol et du glucose et n'a pas touché le quercétol-3-rhamnoside.

*

* *

Conclusion

Les folioles de Cassia sieberiana D.C. renferment :

1) des composés rhéiniques : rhéine-8-glucoside et rhéine. Celle-ci domine dans l'échantillon analysé.
2) des flavolonosides : quantités notables de quercitrin et d'isoquercitrin.
3) une leucoanthocyanne.
4) des tanins catéchiques en faible proportion.

Application au Cassia sieberiana D.C. (fleurs)

Un échantillon de fleurs du Cassia sieberiana a été récolté par le Professeur P. JAEGER en mars 1966 sur le versant ouest d'une savane située à 550 m d'altitude, dans les Monts Loma, en Sierra Leone.

L'analyse chimique montre la présence d'un leucoanthocyanne, se transformant en anthocyanne rouge après hydrolyse chlorhydrique de 15 minutes au B.M. Ce pigment rouge est extractible par l'alcool amylique.

Nous n'avons pu mettre en évidence aucun hétéroside anthraquinonique. Par contre, de la rhéine et de l'aloémodol libres ont été trouvés en assez grande quantité.

Chapitre V.- APPLICATION au CASSIA MARYLANDICA L. (folioles)

Les folioles du Cassia marylandica L., encore dénommé "American Senna", "Maryland Senna", "Locust plant", constituent la drogue couramment utilisée en Amérique du Nord comme Séné, depuis le XVIII^{ème} siècle. Laxatif doux en infusion, ses propriétés seraient vraisemblablement dues aux anthraquinones que E. MAURIN [2] avait déjà évaluées colorimétriquement dans leur ensemble par la réaction de BORNTRAEGER. Mais leur nature n'était pas encore connue.

C'est pourquoi, afin d'étudier la composition chimique qualitative de cette espèce, nous avons analysé un échantillon commercial américain de folioles sèches.

*

* *

1) SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE :

- échantillons d'anthraquinones, de flavones et de flavonols préparés au laboratoire.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) DE L'EXTRAIT GLOBAL :

Les chromatogrammes des solutions hydroalcoolique et aqueuse sont semblables. Nous observons 6 taches principales: ce sont les numéros 2, 3, 4, 6, 8, 9. Elles sont reliées par les traînées plus faibles correspondant aux numéros 1, 5, 7.

L'examen des couleurs après KOH d'une part, après HNO_3 et KOH d'autre part, est identique : l'échantillon commercial de C. marylandica examiné ne contient pas de formes anthrones.

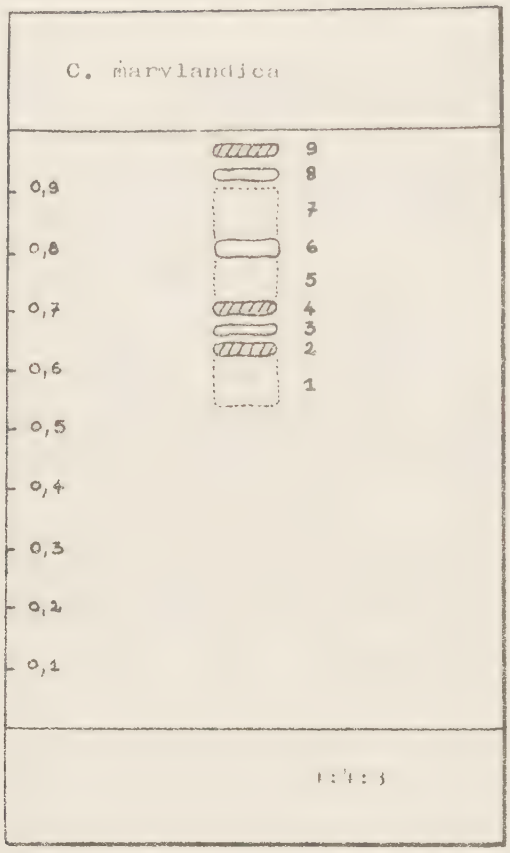


Fig. 7

Tableau VII

N°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV 366 nm après $AlCl_3$
9	97-99	rouge-orangé	rose	/
8	92-94	brun-violine	jaune intense	jaune vif
7	84-91	jaune-vert	jaune	jaune
6	80-83	brun-violine	jaune intense	jaune vif
5	73-78	jaune-vert	jaune	jaune
4	70-72	rouge-orangé	rouge violacé	orangé
3	66-68	jaune-orangé	jaune	jaune-vert vif
2	63-65	rouge-orangé	rouge violacé	orangé
1	55-61	brun-violine	jaune	jaune

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

Effectuée dans le système hexane-acide acétique (4:1), cette analyse est simplifiée, les formes anthrones étant absentes. L'hydrolyse oxydative ferrique est superflue dans ce cas particulier.

La fraction 1 des génines libres montre :

- des traces de chrysophanol et de physcion, respectivement de R_F 0,82-0,85 et 0,71-0,75.
- une tache de R_F 0,05 à fluorescence bleu-violet.
- un flavonoïde libre au point d'application, à fluorescence jaune devenant brillante après pulvérisation d'$AlCl_3$.

La fraction 2 des génines totales hétérosidiques après hydrolyse renferme seulement de l'émodol.

L'émodol se retrouve dans la fraction 3 des dérivés non rhéiniques. La fraction 4 des dérivés rhéiniques est vide de constituants. Enfin, la fraction 5 des génines oxydées après hydrolyse ne contient que l'émodol. Cette expérience conjuguée avec l'hydrolyse simple et avec la révélation des chromatoplaques par HNO_3 suivi de KOH, permet d'affirmer l'absence de formes anthrones, les anthraquinones présentes dans la drogue étant à leur terme ultime d'oxydation.

D'après le schéma général dans le (4:4:3) et l'analyse dichotomique, le Cassia marylandica renferme deux hétérosides de l'émodol (taches n° 2 et n° 4) et des traces de chrysophanol et de physcion libres (tache n° 9).

4) ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE : CARACTÉRISATION DES CONSTITUANTS PRINCIPAUX :

La poudre de folioles de C. marylandica est épuisée au Soxhlet. L'éther de pétrole et le chloroforme enlèvent les caroténoïdes et les chlorophylles. L'éther extrait les génines libres. Enfin, l'alcool à 95° dissout tous les principes hétérosidiques. Après concentration, l'extrait alcoolique est chromatographié dans le (4:4:3) en préparative, sur des plaques de 40x20 cm,

recouvertes d'une épaisseur de 2,5 mm de gel de silice. La durée de migration à 20°C est d'environ 4 heures pour 20 cm. Les bandes 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, sont prélevées et réépuisées au Soxhlet par de l'alcool à 95°; on obtient les solutions correspondantes :

Solution 1 :

La fluorescence violine sur papier et en C.C.M., la coloration jaune vif après $AlCl_3$ indiquent un flavonoïde. Sa teneur très faible ne nous a pas permis d'en faire l'analyse.

Solution 2 :

Cette solution encore impure est purifiée sur colonne de gel de silice 0,05-0,20 mm. L'élution est effectuée par du (4:4:3) et on recueille des fractions successives de 20 ml dont la composition est suivie par C.C.M. On sélectionne les fractions qui ne contiennent que la substance anthracénique. Une hydrolyse au B.M. par H_2SO_4 à 10 % est effectuée pendant 30 minutes. L'hydrolysat est épuisé à l'éther. Celui-ci, chromatographié dans le (4:1), ne renferme que de l'émodol. La phase aqueuse acide est neutralisée au B.M. par du CO_3Ba, filtrée sous vide, évaporée à sec et reprise par le minimum d'alcool. Cette solution est déposée sur plaque de gel de silice Merck, prête à l'emploi ainsi que des solutions de sucres témoins. Le solvant utilisé est celui de PASTUSKA [48] constitué par :

méthyléthylcétone-acide acétique-méthanol (3:1:1).

La durée de migration est d'environ deux heures pour 10 cm. Après révélation par une solution sulfurique et acétique d'aldéhyde anisique dans de l'alcool et passage à l'étuve de 5 à 10 minutes à 100°C, on obtient deux taches : l'une au niveau du rhamnose de couleur jaune-vert et de R_F 0,70, l'autre au niveau du glucose de couleur bleue et de R_F 0,50. Il n'y a aucune confusion possible pour le rhamnose car c'est le sucre dont le R_F dans ce solvant est le plus élevé. Pour confirmer le glucose dont la couleur de révélation se rapproche de celle du fructose (quoique le R_F du fructose

soit inférieur puisque de 0,40), nous avons employé la méthode du témoin interne en C.C.M. bidimensionnelle. La première dimension est développée dans le solvant des sucres précité. La deuxième dans le solvant du même auteur [48] benzène-acide acétique-méthanol (1:1:3) en ayant préalablement pulvérisé la plaque par une solution tampon d'acide borique 0,1 N dans l'éthanol. Lorsque le témoin interne est du glucose, on n'observe qu'une seule tache. Avec du fructose, il apparaît deux spots distincts. La présence du glucose a d'autre part été confirmée par la réaction de COMER.

Nous avons tenté d'effectuer une hydrolyse enzymatique par la β-glucosidase d'amande, d'une solution aqueuse de la bande n° 2, à l'étuve. Après 60 heures à 34° C, la solution est agitée avec de l'éther qui est chromatographié dans le (4:1). L'émodol est absent; par contre nous observons des traces de chrysophanol et de physcion, ce qui montre que malgré une purification poussée, les deux β-glucosides de chrysophanol et de physcion accompagnent à l'état de traces cet hétéroside d'émodol.

La tache n° 2 est donc constituée par un hétéroside d'émodol contenant glucose et rhamnose, non dédoublable par la β-glucosidase d'amande et accompagné de traces de β-glucosides de chrysophanol et de physcion.

En soumettant une fraction de la solution n° 2 à l'hydrolyse enzymatique par la levure fraîche (invertase), on peut après 48 heures extraire à l'éther de l'émodol. Mais aucune trace de chrysophanol et de physcion n'est décelable.

Ces expériences confirment que :

- le glucorhamnoside d'émodol a vraisemblablement des liaisons α entre les sucres et la génine. Il existe effectivement plusieurs isomères de position [49],[50].
- les glucosides de chrysophanol et de physcion ont des liaisons β puisqu'ils ne sont pas hydrolysés par l'invertase alors qu'ils sont dédoublés par la β-glucosidase.

Solution 3 :

La solution 3 est en fait un mélange, puisque la C.C.M. dans le (4:4:3) montre la présence des deux composants de R_F 0,66-0,68 et 0,80-0,83 (taches n° 3 et n° 6).

La réaction de SHINODA effectuée sur cette solution est très nettement positive : du jaune pâle, elle vire au rose intense. La pulvérisation d'$AlCl_3$ sur plaque produit en lumière U.V. une intense fluorescence jaune-verdâtre.

La C.S.P. dans le (4:1:5) révèle l'existence de deux spots de R_F 0,55 et 0,62, de fluorescence brun-violine, virant au jaune-vert intense par action d'$AlCl_3$.

L'hydrolysat obtenu après 30 minutes au BM en présence d'HCl à 10 %, est épuisé par de l'éther qui se colore en jaune pâle.La solution aqueuse acide demeure encore jaune. Nous avons chromatographié en C.S.P. dans le (4:1:5) parallèlement la génine extraite à l'éther et la solution aqueuse restante après neutralisation par une solution chloroformique de N-N dioctylméthylamine. Les deux développements sont rigoureusement identiques : une seule tache de R_F 0,86 apparaît. Ceci indique qu'il n'y a qu'une seule génine libérée. Celle-ci est peu soluble dans l'éther et donne une réaction de SHINODA rose-rouge. Par ailleurs, les spectres U.V. de la génine et de la solution aqueuse restante, remise en solution éthanolique, sont également superposables.

L'analyse des sucres libérés dans la phase aqueuse montre la présence exclusive de glucose, confirmée par le test de COMER.

La solution n° 3 étant un mélange de 2 glucosides d'une même génine, nous en avons effectué les spectres U.V. :

- Spectre direct de la solution dans l'alcool à 95° : λ max. 343 nm, 270 nm et 252 nm.
- Par addition d'$AlCl_3$: λ max. 375 nm, 350 nm, 294 (ép.) et 270 nm. L'effet bathochrome sur les deux bandes (+ 32 nm sur la bande I), montre que l'-OH en 5 est libre.

- Par CH_3COONa : λ max. 346 nm, 270 nm, 253 nm. Pas de déplacement appréciable des bandes du spectre initial. Il n'y a par conséquent pas d'-OH libre ni en 7 ni en 4'.
- Par addition d'acide borique : λ max. 346 nm, 269 nm, 253 nm. Pas de modification du spectre initial, donc il n'y a pas deux -OH libres en ortho.

La génine libérée après hydrolyse a un R_F de 0,92-0,94 en C.C.M. dans le (4:4:3), et correspond par conséquent à la tache n° 8. Les spectres U.V. de cette génine donnent les maximums d'absorption suivants :

- Spectre direct de la génine dans l'éthanol : λ max. 343 nm, 280 (ép.), 270 nm, 254 nm.
- Par addition d'$AlCl_3$: λ max. 382 nm, 353 nm, 294 (ép.) 276 nm. L'-OH en 5 est libre.
- Par CH_3COONa : max. 355 nm, (320 nm) et 277 nm. La bande I à 355 nm indique l'absence d'un -OH libre en 4' et le déplacement de la bande II à 277 nm montre la présence d'un -OH libre en 7.
- L'addition d'acide borique ramène la bande I à 345 nm. Il n'y a donc pas deux -OH libres en ortho et d'ailleurs aucun sucre sur le noyau latéral.

Nous sommes par conséquent en présence de 7-glucosides d'une flavone ayant des -OH en 5 et en 7 et deux substituants sur le noyau latéral.

La tache n° 8, génine flavonique de R_F 0,92-0,94 en C.C.M. dans le (4:4:3), nous a donné un R_F de 0,86 en C.S.P. dans le (4:1:5). L'étude du spectre confirme que cette génine serait la diosmétine qui présente d'après J.B. HARBORNE un R_F de 0,85 dans le (4:1:5) (voir T.A. GEISSMAN [51] p.55), et dont les maximums d'absorption d'après T.A. GEISSMAN sont de 345 nm, 267 nm, 254 nm (p. 111 et suivantes).

Les taches n° 3 et n° 6 en C.C.M. dans le (4:4:3), respectivement de R_F 0,55 et 0,62 dans le (4:1:5) en C.S.P., sont des glucosides de diosmétine dont les molécules de glu-

cose d'après l'étude des spectres sont fixées en 7.

Notons que le diosmétine-7β-glucopyranoside, dont la synthèse a été effectuée par R. TECULE, J. CHOPIN et C.MENTZER [52] en 1960, a un R_F de 0,54 dans le (4:1:5) d'après ces auteurs.

Solution 4 :

La solution 4, encore impure, est rechromatographiée en préparative dans le solvant : n-propanol-acide acétique-acétate d'éthyle (1:1:3). On obtient deux bandes : l'une constitue l'anthraquinone purifiée (R_F 0,60-0,80), l'autre les flavonoïdes précédents (R_F 0,20-0,40).

Une partie de l'éluat anthraquinonique purifié est hydrolysée au B.M. par HCl 10 % pendant 30 minutes. La génine libérée est extraite à l'éther. Elle est constituée par de l'émodol (C.C.M. dans le 4:1). La phase acide est neutralisée au moyen d'une solution chloroformique à 30 % de N-N dioctyl-méthylamine. Après repos, la couche aqueuse est lavée avec du chloroforme pur; elle est filtrée, concentrée puis chromatographiée comparativement aux sucres témoins dans le solvant déjà précité. Après révélation, il apparaît deux taches de R_F identiques à ceux du glucose et du rhamnose. Le glucose est confirmé par le test de COMER.

Une autre partie de l'éluat est évaporée à sec puis reprise par de l'eau et placée à l'étuve en présence de β-glucosidase d'amande. L'action enzymatique est complète après 36 heures. La génine libérée colore en jaune intense l'éther. Chromatographié dans le (4:1), il ne renferme que de l'émodol. La solution aqueuse restante, incolore, analysée par C.C.M. dans les solvants habituels, ne contient ni hétéroside primitif ni intermédiaire éventuel. La recherche des sucres révèle la présence du glucose et du rhamnose.

La solution n° 4 est donc constituée par un hétéroside d'émodol contenant glucose et rhamnose; mais à la différence de la tache n° 2, celui-ci est totalement dédoublable par la β-glucosidase d'amande.

Solution 6 :

Elle renferme l'un des glucosides de diosmétine décelé lors de l'analyse de la solution 3, et de R_F 0,62 en C.S.P. dans le (4:1:5).

Solution 8 :

Elle contient la génine des deux glucosides flavoniques trouvée après hydrolyse de la solution 3 et identifiée à la diosmétine de R_F 0,86 en C.S.P. dans le (4:1:5).

Solution 9 :

Elle est constituée par les génines anthraquinoniques étudiées dans la méthode dichotomique.

Tels sont les résultats de l'analyse que nous avons pu effectuer sur un échantillon commercial de folioles séchées de cette espèce ayant poussé dans son pays d'origine. C'est depuis l'année 1723 que le Cassia marylandica L. a été introduit en Europe, comme plante ornementale dans les jardins anglais.

Sur un plant fleuri de C. marylandica du Jardin botanique de l'Université de Strasbourg, quelques rameaux feuillés ont été prélevés pour nous en septembre 1966 et 1967. Ni l'analyse dichotomique, ni celle des fractions successives d'épuisement au Soxhlet n'ont donné de résultat, la teneur de ces feuilles en principes anthracéniques étant nulle.

Conclusion

Les folioles du C. marylandica L. étaient inscrites aux éditions I à VI de l'U.S. Pharmacopoeia comme analogue de nos Sénés officinaux.

Son analyse qualitative, effectuée sur un échantillon commercial montre la présence de constituants anthraquinoniques :

- deux glucorhamnosides d'émodol (l'un dédoublable par la β-glucosidase, l'autre pas).
- des traces de chrysophanol et de physcion libres et de β-glucosides.

Mais la diversité des molécules présentes dans les Cassia

officinaux (dianthrones, anthrones..) n'y est pas représentée. C'est certainement pourquoi son action est moins énergique et qu'il est utilisé comme laxatif doux.

Par contre sa richesse en flavonoïdes (deux glucosides de diosmétine et diosmétine libre) semble très appréciable.

Chapitre VI.- APPLICATION au CASSIA OCCIDENTALIS L. (folioles)

Les folioles de cette espèce annuelle buissonnante, introduite au siècle dernier dans la plupart des régions tropicales du monde, ont surtout des applications empiriques en dermatologie [37]. Mais aucune propriété purgative n'est signalée pour les folioles du C. occidentalis, hormis une seule mention comme laxatif pour les enfants [53].

C'est d'ailleurs ce que confirme l'évaluation colorimétrique de la teneur en dérivés anthraquinoniques par E. MAURIN [2] qui n'en signale que des traces, alors que les travaux de P. DUQUÉNOIS en 1959 [3] permettant la différentiation entre génines et hétérosides d'une part, entre formes réduites et oxydées d'autre part, n'en mentionnent point.

Mais en 1959, N. PRISTA et CORREIA ALVES [54] utilisant des méthodes chromatographiques caractérisent : la rhéine, le chrysophanol et une substance identique à la 1,8 dihydroxyanthraquinone. Quant aux résultats publiés dans la thèse de B. ÇUBUKÇU [21], ils excluent tout dérivé anthraquinonique et flavonoïdique.

Devant ces résultats aussi contradictoires, B. ÇUBUKÇU émet l'hypothèse de l'existence de races chimiques diverses. En nous adressant à des lots de folioles du C. occidentalis de diverses provenances, nous avons essayé d'examiner cette hypothèse.

*

* *

1) MATÉRIEL :

Nos analyses portent sur :

a) trois lots de folioles non stabilisées de provenance différente :
   - des planches de l'herbier personnel de M. le Professeur P. JAEGER, récoltées à Dakar en 1966,
   - des folioles récoltées à Madagascar et déterminées par M. le

Professeur P. BOITEAU sous le nom vernaculaire de "Bemaimbo",
- des folioles offertes par un importateur hollandais,
- des folioles provenant du jardin botanique de l'IFAN (Dakar) récoltées en 1966.

b) deux lots de folioles stabilisées en septembre 1967 selon le procédé de BOURQUELOT et provenant de jeunes plantules que nous avons obtenues à Strasbourg par semis en mars 1967 : un lot de feuilles vertes et un lot de feuilles jaunies.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) :

Les décoctés hydroalcooliques ou les alcoolatures stabilisées de chacun de ces lots fournissent des images chromatographiques rigoureusement identiques; seule la tache n° 1 est absente dans les folioles non stabilisées ce qui indique qu'il s'agit vraisemblablement d'un hétéroside primaire dédoublé lors de la dessication de la feuille.

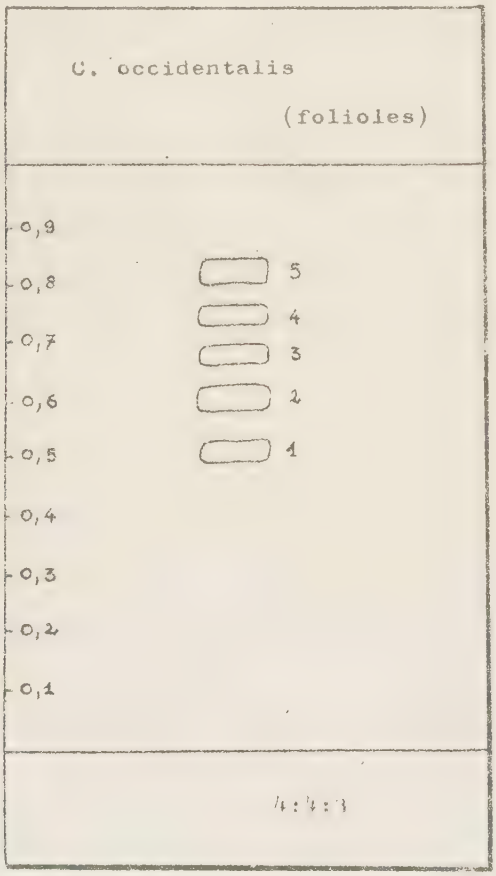


Fig. 8

Tableau VIII

N°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV 366 nm après $AlCl_3$
5	79-84	gris bleuté	/	/
4	72-76	jaune	jaune	jaune
3	65-69	brun-violine	jaune	jaune vif
2	57-62	brun-violine	jaune	jaune vif
1	49-52	jaune	jaune	jaune

La révélation par KOH montre une grande homogénéité du chromatogramme puisque toutes les taches se colorent en jaune, ce qui exclut la présence de dérivés anthraquinoniques. L'absence de formes anthrones monomères est confirmée par traitement successif de la plaque à HNO_3 puis à KOH. Par contre, la fluorescence directe de ces taches, tantôt jaune, tantôt brun-violine (virant au jaune-gris par les vapeurs d'ammoniac), fortement accentuée par $AlCl_3$, fait penser à des flavonoïdes, ce qui confirme la coloration rouge dans la réaction de SHINODA.

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

L'analyse dichotomique effectuée sur un décocté aqueux montre qu'il n'y a aucun dérivé anthracénique présent dans les folioles de tous ces lots en tenant compte, bien sûr, de la limite de sensibilité de cette méthode rapide.

4) ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE : CARACTÉRISATION DES CONSTITUANTS PRINCIPAUX :

La stabilisation dans de l'éthanol bouillant des folioles fraîches prélevées sur de jeunes plantules de C. occidentalis, fournit une alcoolature, qui concentrée sous vide est amenée à la consistance d'un extrait fluide. Comme nous travaillons sur du matériel frais, la majeure partie de la chlorophylle se dissout dans l'alcool et gêne ensuite les divers essais. Afin de l'éliminer, l'extrait alcoolique est épuisé par de l'éther de pétrole

qui la solubilise. On contrôle par C.C.M. que seule la chlorophylle y est présente.

Dans l'extrait alcoolique, on remarque l'absence de tanins (pas de précipité par addition d'une solution de gélatine à l'extrait en solution aqueuse) et de leucoanthocyanne (pas de coloration rouge au BM par addition d'HCl). L'extrait alcoolique est déposé sur plaque préparative de gel de silice puis développement dans le (4:4:3). Les bandes de gel prélevées sont éluées par de l'alcool à 50° au BM.

Solution n° 1 :

Très faiblement concentrée, cette solution contient à l'état de traces un flavonoïde caractérisé en C.C.M. par sa fluorescence jaune intensifiée par action d'$AlCl_3$. La teinte rosée de cette solution n'est pas due à un flavonoïde mais à une substance de R_F 0,75 en C.S.P. dans le (4:1:5), de fluorescence orangée devenant jaune par $AlCl_3$. Cette substance, que la révélation après $AlCl_3$ ferait prendre pour un flavonoïde, est en réalité un composé anthronique. L'hydrolysat de la solution n° 1 au BM par HCl 10 % pendant 30 min. est épuisé à l'éther. Quoique la solution aqueuse acide demeure légèrement jaune, après séchage sur SO_4Na_2 l'éther révèle la présence d'une tache de fluorescence rouge sombre au point d'application en C.C.M. dans le (4:1). Aucune anthraquinone par contre n'est visible. La coupure oxydative par une solution de $FeCl_3$ au BM pendant 30 min. conduit au physcion. Nous sommes donc en présence de traces d'hétéroside de physcion-dianthrone dont il nous a été impossible d'analyser les sucres (voir le chapitre concernant les racines).

Tableau IX de R_F en C.S.P. des solutions 2, 3, 4 :

	n-butanol-ac. acétique - eau (4:1:5)	eau	acide acétique			acétate d'éthyle - acide formique - eau (10:2:3)
			15 %	30 %	60 %	
Solution n° 2	0,22	0,28	0,54	0,60	0,85	0,07
Solution n° 3	0,30	0,25	0,54	0,60	0,85	0,12
Solution n° 4	0,64	0,15	0,45	0,50	0,80	0,52

Solution n° 2 :

L'hydrolyse chlorhydrique de 30 min. au BM libère une trace de génine qui, épuisée à l'éther et oxydée par $FeCl_3$, donne du physcion en C.C.M. dans le (4:1). La solution n° 2 contient donc des traces d'un hétéroside de physcion-dianthrone.

La phase aqueuse acide restante, de couleur jaune pâle, neutralisée par une solution chloroformique de N-N' dioctyl-méthylamine est chromatographiée sur papier dans le (4:1:5) comparativement à la solution initiale avant hydrolyse : les deux images chromatographiques sont identiques, ce qui montre que le flavonoïde présent, de R_F 0,22 dans le (4:1:5) n'est pas touché par l'hydrolyse.

En effectuant une hydrolyse supplémentaire de 45 min. par HCl 10 % nous ne pouvons caractériser de génine soluble dans l'éther après agitation. Après extraction de la substance par le n-butanol et C.S.P. dans le (4:1:5) le R_F est toujours identique au flavonoïde initial. Nous sommes donc en présence d'un hétéroside flavonique difficilement hydrolysable. C'est par l'emploi d'une méthode plus énergique que l'on a pu mettre en évidence sa génine :

20 ml d'une solution aqueuse du n° 2 sont additionnés de 4 ml d'une solution de $FeCl_3$ à 26 % et de 12 ml d'HCl concentré et placés au BM pendant 4 heures sous réfrigérant à reflux. Après épuisement à l'éther celui-ci est bien lavé

pour éliminer toute trace de $FeCl_3$. On évapore à sec et on reprend par de l'alcool absolu. La C.S.P. dans le (4:1:5) donne une tache de R_F 0,89, de même R_F que l'apigénine témoin et qui se montre identique après révélation.

L'étude du spectre UV de la solution n° 2, débarrassée des traces d'hétéroside de physcion-dianthrone, donne les résultats suivants :

spectre direct : λmax. : 338 nm, 271 nm. Ce spectre est du type apigénine.

+ $AlCl_3$: λ max. : 376 nm, 342 nm, 303 nm, 279 nm. L'effet bathochrome sur les deux bandes, montre la présence d'un -OH libre en 5.

+ CH_3COONa : λ max. : 389 nm, 279 nm. L'-OH en 4' est libre (effet bathochrome sur la bande I) de même que l'-OH en 7.

+ CH_3COONa + BO_3H_3 : λ max. : 340 nm, 272 nm. Pas de modification du spectre initial : il n'y a par conséquent pas deux -OH libres en ortho.

Ceci confirme la présence d'un C-hétéroside d'apigénine dans la solution n° 2.

Solution n° 3 :

Cette solution est exempte de dérivé anthracénique. Son hydrolyse par HCl 10 % au BM 45 min. conduit à la substance n° 4, de R_F 0,64 dans le (4:1:5) en C.S.P., après épuisement au n-butanol. En présence de $FeCl_3$ et d'HCl concentré au BM pendant 4 heures, l'épuisement à l'éther permet de mettre en évidence l'apigénine. En solution méthanolique, les caractères spectraux en UV sont :

spectre direct : λ max. : 338 nm, 270 nm. Spectre du type apigénine.

+ $AlCl_3$: λmax. : 376 nm, 340 nm, 299 nm, 278 nm. -OH libre en 5 (effet bathochrome sur les deux bandes).

+ CH_3COONa : λmax. : 389 nm, 270 nm. Effet bathochrome important sur la bande I, tandis que la

bande II demeure à 270 nm. La position 4' comporte un -OH libre alors que l'-OH en 7 est hétérosidifié.

+ CH_3COONa + BO_3H_3 : λ max. : 340 nm, 269 nm. Les bandes d'absorption reviennent aux longueurs d'ondes initiales : il n'y a pas deux -OH libres en ortho.

La solution n° 3 est donc d'après l'étude de son hydrolyse et de ses spectres un hétéroside en 7 de la substance n° 4.

Solution n° 4 :

La solution n° 4 n'est pas hydrolysable par HCl à 10 % après 45 min. au BM. Par contre, dans les conditions énergiques précitées, on peut mettre en évidence de l'apigénine.

Le R_F de 0,64 en C.S.P. dans le (4:1:5) est identique à celui de la vitexine observé par L. JURD, T.A. GEISSMAN et M.K. SEIKEL (R_F 0,63) [55]. Celui de 0,50 en C.S.P. dans l'acide acétique à 30 % est voisin de celui que constatent ces mêmes auteurs pour la vitexine (R_F 0,46).

En C.C.M. sur gel de silice dans le mélange solvant : acétate d'éthyle-acide formique-eau (10:2:3), nous trouvons les valeurs de R_F comprises entre 0,73 et 0,76. B. GLOTZBACH et H. RIMPLER donnent le R_F de 0,79 pour la vitexine [56].

Les spectres UV ont été enregistrés avec des solutions éthanoliques :

spectre direct : λ max. : 336 nm, 271 nm, compatible avec celui de l'apigénine.

+ $AlCl_3$: λ max. : 377 nm, 341 nm, 303 nm, 278 nm. Le dédoublement des bandes I et II indique un -OH libre en 5.

+ CH_3COONa : λ max. : 388 nm, (ép. 302 nm), 278 nm. Le déplacement des deux bandes indique que les -OH en 4' et en 7 sont libres.

+ CH_3COOAa + BO_3H_3 : λ max. : 340 nm, 270 nm. Il n'y a pas deux -OH libres en ortho. Les valeurs du

spectre ainsi que les R_F et la difficulté d'hydrolyse de la substance n° 4 montrent une identité de propriétés avec celles de la vitexine.

Une confirmation supplémentaire est apportée par la réaction spécifique de la vitexine décrite par R. PARIS et S. ETCHEPARE [57] : par addition d'anhydride acétique et d'acide sulfurique, la vitexine présente une fluorescence violette.

Solution n° 5 :

En trop faible concentration, elle n'a pu être étudiée.

*

* *

Conclusion

Dans les folioles du C. occidentalis de provenances diverses stabilisées ou non dont nous disposions, ont été identifiées :

- des traces d'hétérosides de physcion-dianthrone (à l'exclusion de tout autre dérivé anthracénique) ce qui montre la faible valeur purgative de ces folioles.
- des quantités importantes de C-flavonoïdes.

N'ayant utilisé ni la dégradation alcaline, ni d'autre méthode spéciale d'étude des C-flavonoïdes [58], nous ne pouvons conclure catégoriquement sur leur structure. Disons simplement qu'à côté d'un C-flavonoïde ayant les caractères de la vitexine (R_F 0,64 dans le 4:1:5), nous avons mis en évidence son 7-hétéroside (R_F 0,30) et un troisième dérivé (R_F 0,22), (partie glucidique différente ou isomère de position).

L'abondance de ces flavonoïdes gêne beaucoup la détection des dérivés anthraquinoniques en chromatographie. C'est sans doute pourquoi les auteurs portugais [54] ont signalé dans les feuilles, à tort semble-t-il, la rhéine, le chrysophanol et une 1-8 dihydroxyanthraquinone.

Pour notre part, nous ne décelons que des traces d'hétérosides de physcion-dianthrone; cela est en accord avec les

évaluations colorimétriques antérieures [2], [3]. Ces traces ne sont pas visibles dans l'analyse directe des extraits alcooliques. C'est pourquoi ces folioles ne sont pas purgatives.

APPLICATION au CASSIA OCCIDENTALIS L. (racines)

Stimulantes et fébrifuges, les racines du C. occidentalis sont souvent employées empiriquement pour leurs propriétés purgatives [37], [53], [59]. C'est seulement en 1964 que B. ÇUBUKÇU, grâce à la C.S.P. [21], en reprit l'étude, mais ne signale que la présence de tanins catéchiques, à l'exclusion de tout autre composant.

Un important travail fut également publié en 1964 par A. CORREIA ALVES [14] mentionnant la présence d'une 1-8 dihydroxyanthraquinone, d'émodol, de rhéine et de quercétol. Cette analyse a été réalisée tantôt au moyen de la C.S.P. dans le (4:1:5), tantôt au moyen de spectres UV ou de diverses réactions de coloration non spécifiques. Mais elle ne pouvait apporter de résultats définitifs, car l'auteur ne disposait pas encore de solvants distinctifs des diverses anthraquinones entre elles. Aussi avons-nous repris l'étude des racines sur divers matériaux avec les méthodes que nous avons décrites.

*

* *

1) MATÉRIEL :

Le matériel séché nous a été offert par un importateur hollandais. Nous avons également étudié une alcoolature de racines stabilisées provenant de plantules de six mois d'âge, ayant poussé à Strasbourg : les résultats de cette étude seront envisagés à la fin de ce chapitre.

2) C.C.M. dans le (4:4:3) :

En examinant la C.C.M. d'un décocté hydroalcoolique de racines sèches en lumière UV d'une part, après révélation potassique d'autre part, nous sommes frappés par l'extrême richesse en dérivés anthracéniques puisque sur les neuf taches présentes, seule la tache n° 7 n'est pas anthracénique.

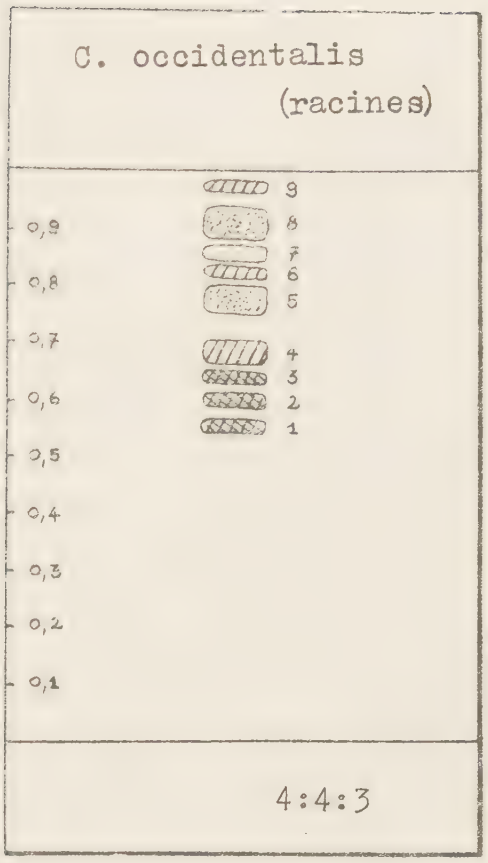


Fig. 9

Tableau X

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm.	Couleur après KOH	Fluorescence UV 366 nm après $AlCl_3$
9	96-98	rouge-orangé	rouge-violet	orangé
8	88-94	jaune-orangé	jaune	jaune-vert
7	84-87	bleu ciel	/	/
6	81-83	orangé faible	rosé faible	orangé faible
5	75-80	orangé—>jaune	jaune	jaune-vert
4	66-70	rouge-orangé	rouge-violet	orangé
3	63-65	pourpre violet	violet foncé	sombre
2	58-61	rouge sombre	jaune-brun	jaune-brun
1	54-56	rouge sombre	jaune-brun	jaune-brun

En traitant la plaque par HNO_3 puis KOH, les taches n° 5 et n° 8 donnent les colorations des anthrones.

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

D'après l'examen des chromatogrammes dans le (4:1) :

a) La fraction 1 des génines libres renferme :
- du chrysophanol : R_F 0,82-0,85,
- du chrysophanol-anthrone : R_F 0,80-0,82 à fluorescence rouge sombre,
- du physcion : R_F 0,71-0,75,
- du physcion-anthrone : R_F 0,65-0,67 à fluorescence rouge sombre,
- de l'émodol : R_F 0,23-0,26,
- de l'émodol-anthrone : R_F 0.

Malgré des essais répétés, nous avons été surpris de ne point trouver la rhéine et la 1,8 dihydroxyanthraquinone signalés par A.C. ALVES. Nos échantillons ne contenaient certainement pas ces substances, car nous disposons d'une technique de C.C.M. qui permet de déceler la présence même de 0,1 µg de ces diverses anthraquinones. La distinction entre chrysophanol, 1,8 dihydroxyanthraquinone et physcion est devenue aisée grâce au (4:1), surtout si l'on augmente la longueur de parcours ou que l'on utilise la méthode du témoin interne.

L'oxydation par le $FeCl_3$ de la fraction n° 1 conduit aux trois anthraquinones : chrysophanol, physcion, émodol.

b) La fraction 2 des génines hétérosidiques après hydrolyse montre la présence :
- de chrysophanol,
- de physcion,
- d'émodol,
- d'une tache de fluorescence rouge sombre au point d'application, vraisemblablement due à une dianthrone.

c) La fraction 3 ne contient aucun constituant rhéinique.

d) La fraction 4 renferme les mêmes constituants que la fraction 2.

e) Dans la fraction 5 des génines hétérosidiques oxydées après hydrolyse on met en évidence :

- du chrysophanol, de physcion, de l'émodol, sans aucune tache au point d'application. Donc si la tache de la fraction 2 de R_F nul est une dianthrone, celle-ci doit provenir d'une ou de deux de ces mêmes génines (homo ou hétérodianthrone).

Les résultats de l'analyse dichotomique prouvent la grande richesse des racines du C. occidentalis en dérivés anthracéniques, tant par la variété des formes que par l'abondance des constituants.

4) ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE : CARACTÉRISATION DES CONSTITUANTS PRINCIPAUX :

Ces racines ne contiennent pas de leucoanthocyanne. Nous n'avons pu mettre en évidence la présence de tanins catéchiques signalés en faible quantité par B. ÇUBUKÇU puisqu'une solution aqueuse ne flocule pas une solution de gélatine. Aucune coloration n'est également obtenue en présence d'une solution d'alun de fer et d'ammoniaque.

Pour caractériser les différentes taches du chromatogramme, nous avons utilisé la chromatographie préparative sur gel de silice dans le (4:4:3). Après avoir collecté les différentes bandes de gel, celles-ci ont été épuisées à chaud au BM par une solution hydroalcoolique et nous ont donné les solutions correspondant aux taches de la C.C.M. initiale.

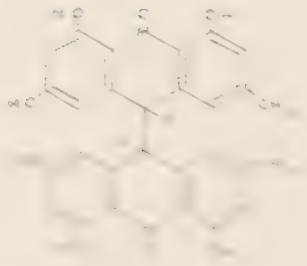
Solution n° 1 :

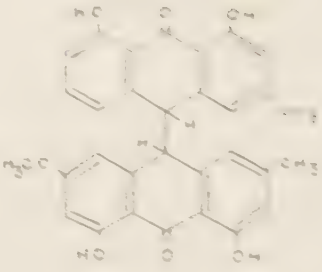
L'éluat n° 1, de concentration très faible a été hydrolysé et sa génine étudiée en C.C.M. dans le (4:1). Elle ne fournit qu'une tache de fluorescence rouge sombre au point d'application. Après action de $FeCl_3$ au BM, l'analyse dans le (4:1) montre deux fines taches de chrysophanol et de physcion. La solution n° 1 est trop peu concentrée pour qu'une analyse de sucre soit possible.

Il s'agit donc d'un hétéroside de chrysophanol-physcion dianthrone. Ce pourrait être un hétéroside de "palmidine D", nom

Tableau XI

déjà proposé par J. LEMLI [60]. Cette dianthrone de chrysophanol-physcion possède un R_F nul dans le (4:1) du fait de son poids moléculaire important. Par contre, son R_F dans le (4:4:3) en C.C.M. est de 0,63-0,65.





Chrysophanol-physcion-dianthrone

Solution n° 2 :

Les résultats concernant l'analyse de cette solution sont en tous points identiques à ceux énoncés pour la solution n° 1. Nous sommes également en présence d'un hétéroside de chrysophanol-physcion dianthrone, différant du précédent par la nature de la partie glucidique. On peut aussi penser qu'il s'agit d'un isomère puisque dans le (4:4:3) nous pouvons très bien séparer des isomères de position (sennosides A, B ou C, D par exemple).

Solution n° 3 :

Avant et après hydrolyse chlorhydrique, cette substance de R_F nul dans le (4:1) et de fluorescence rouge sombre, migre au même R_F dans le (4:4:3) : R_F 0,63-0,65. Il s'agit par conséquent d'une génine libre correspondant à l'aglucone des substances n° 1 et n° 2, puisqu'après scission et oxydation par $FeCl_3$, les molécules d'anthrones libérées sont oxydées en anthraquinones pour donner le chrysophanol et le physcion en égale proportion. Il s'agit donc du chrysophanol-physcion hétérodianthrone libre dénommé "Palmidine D" par J. LEMLI [60].

Cette dianthrone est d'ailleurs caractérisée par son spectre UV comportant deux bandes d'absorption : l'une à 355 nm, l'autre à 270 nm.

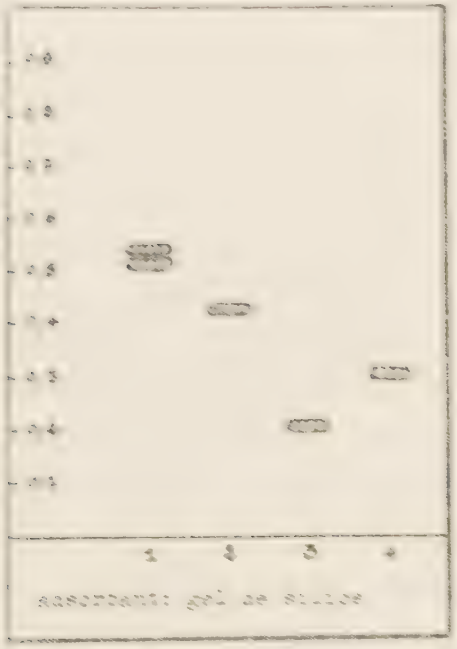
Solution n° 4 :

La fluorescence orangée et la coloration rose-violet après KOH de la tache n° 4, indiquent que la solution est constituée par un hétéroside anthraquinonique. Après hydrolyse chlorhydrique et développement des génines dans le (4:1), on trouve deux taches en quantité égale de chrysophanol et de physcion. Nous ne pouvons mettre en évidence de dianthrone intermédiaire; il s'agit donc d'un mélange de deux hétérosides distincts de chrysophanol et de physcion. L'analyse des sucres en C.C.M. par les techniques déjà exposées montre la présence de glucose et de rhamnose. Sommes-nous en présence de glucoside, de rhamnoside ou de glucorhamnoside de l'une ou de l'autre génine ? L'action de la β-glucosidase d'amande à 37 °C pendant 48 heures sur une solution aqueuse du mélange des hétérosides primaires permet d'envisager une hypothèse de structure.

Après extraction à l'éther, on peut caractériser le chrysophanol et le physcion dans le (4:1), tandis que la phase aqueuse restante, chromatographiée dans le (4:4:3), ne montre plus trace de produit initial ni d'éventuel produit intermédiaire. Le fait que les deux génines (chrysophanol et physcion) aient été libérées prouve que le glucose et le rhamnose appartiennent à la fois aux deux anthraquinones puisque, en admettant que le glucose et le rhamnose appartiennent à des anthraquinones différentes, l'action de la β-glucosidase effective sur le diglucoside aurait été difficile, voire nulle sur le dirhamnoside. Donc le glucose et le rhamnose sont fixés ensemble sur les deux anthraquinones.

De même l'hypothèse de monoglucosides est à rejeter car ceux-ci ont un R_F supérieur dans le (4:4:3). Dans le solvant de HÖRHAMMER [61] (v. fig. 10) en C.C.M. nous trouvons pour le chrysophanol-glucoside et le physcion-glucoside des R_F respectifs de 0,51-0,53 et de 0,53-0,55; l'aloïne possède un R_F de 0,42-0,44 et la rhéine un R_F de 0,20-0,22. Nos hétérosides de chrysophanol et de physcion migrent en une seule tache de R_F 0,30-0,32, intermédiaire entre aloïne et rhéine, bien plus bas que les chrysophanol- et physcion-monoglucosides. Ce sont donc vraisemblablement des

hétérosides plus chargés en sucres, comme les glucorhamnosides de chrysophanol et de physcion.



adsorbant : gel de silice
Solvant : acétate d'éthyle-méthanol-eau (100:16,5:13,5)
1 : chrysophanol et physcion monoglucoside
2 : aloïne
3 : rhéine
4 : solution n° 4

Fig. 10

Solution n° 5 :

La C.S.P. dans le (4:1:5) de cette fraction montre une tache de R_f très voisin de celui du quercétol (à peine inférieur), tandis que l'isorhamnétol, le kaempférol migrent bien plus haut. La fluorescence jaune est fortement accentuée par $AlCl_3$ et devient jaune brillant. C'est vraisemblablement pourquoi A.C. ALTES a identifié cette fraction à du quercétol. En fait, en traitant l'hydrolysat de cette solution par $FeCl_3$ en milieu, on donne naissance à de l'émodol. Nous sommes en présence d'émodol-dianthrone saponifiée en émodol-anthrone et oxydée en émodol par $FeCl_3$.

Cette structure dianthronique est confirmée par les deux bandes caractéristiques du spectre UV : λ max. à 360 nm et 371 nm.

La partie glucidique a été identifiée au glucose après hydrolyse. Sommes-nous en présence d'un monoglucoside ou d'un diglucoside ? Nous ne disposions pas de produit cristallisé pour doser

la partie glucidique. Comme jusqu'à présent les R_F des mono et des diglucosides d'émodol-dianthrone ne sont pas connus, nous avons effectué l'expérience suivante en C.S.P. imprégné de formamide. Dans le solvant de J. LEMLI : toluène-n-butanol-propanol-tétrahydrofurane-formamide-acide formique (60:10:30:10:30:0,05) [62], nous obtenons les R_F suivants :

- émodol-dianthrone-monorhamnoside R_F 0,72
- émodol-dianthrone-biorhamnoside R_F 0,38
- solution n° 5 : R_F 0,30.

Un monoglucoside d'émodol-dianthrone doit avoir un R_F compris entre 0,38 et 0,68. Comme nous avons un R_F de 0,30, nous sommes vraisemblablement en présence d'un diglucoside d'émodol-dianthrone (voir formules Tableau XI).

Solution n° 6 :

Quoique peu concentrée, cette solution donne par hydrolyse un mélange de chrysophanol et de physcion. L'analyse de la partie osidique montre la présence de glucose. Les R_F en C.C.M. dans le solvant de HÖRHAMMER précité, respectivement de 0,51-0,53 et de 0,53-0,55 sont en accord avec les monoglucosides de chrysophanol et de physcion.

Solution n° 7 :

non étudiée.

Solution n° 8 :

Chromatographiée sur papier dans le (4:1:5), cette solution donne une tache de R_F 0,83 identique à celui du kaempférol témoin. De plus sa fluorescence jaune est accentuée par action d'$AlCl_3$. Mais dans des conditions douces, en agitant cette solution en milieu alcalin en présence d'H_2O_2 ou de $FeCl_3$ dilué, on obtient de l'émodol. Il s'agit donc de l'émodol-anthrone libre précédemment observé dans les folioles de C. nigricans Vahl.

Solution n° 9 : ce sont les anthraquinones libres déjà caractérisées.

5) ANALYSE DES RACINES STABILISÉES DU C. OCCIDENTALIS :

L'alcoolature de racines stabilisées donne une image chromatographique différente de celle d'un décocté de racines non

stabilisées sèches.

Tableau XII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
9	95-97	rouge-orangé	rouge-violet	orangé
8	78-82	bleu ciel	/	/
7	73-76	bleu vert	/	/
6	70-72	rouge sombre	jaune	sombre
5	68-70	rouge-orangé	rouge-violet	orangé
4	64-67	bleu ciel	/	/
3	61-63	rouge	rose	rouge-orangé
2	58-60	jaune-vert brillant	jaune intense	jaune-vert très vif
1	50-53	beige-brun	jaune	jaune

L'analyse dichotomique montre :

- des génines libres constituées par du chrysophanol et de l'émodol,
- des génines hétérosidiques, contenant du chrysophanol, du chrysophanol-anthrone et de l'émodol,
- des génines qui, après oxydation ferrique, renferment du chrysophanol et de l'émodol.

En définitive, il n'y a pas de physcion dans les racines fraîches et jeunes; par contre on observe des constituants à fluorescence bleue en quantité assez importante.

*

* *

Conclusion

Les racines sèches du C. occidentalis sont très riches en dérivés anthracéniques, ce qui justifie leur utilité thérapeutique comme purgatif parmi les très nombreuses indications empiriques signalées.

Trois génines anthraquinoniques sont présentes : chryso-

phanol, physcion et émodol. Ces trois anthraquinones peuvent donner naissance aux formes réduites correspondantes et se combiner molécule à molécule pour donner les dianthrones. C'est ainsi que l'on met en évidence :

- deux hétérosides de chrysophanol-physcion dianthrone,
- un hétérodianthrone de chrysophanol-physcion,
- des glucorhamnosides de chrysophanol et de physcion,
- des monoglucosides de chrysophanol et de physcion,
- un diglucoside d'émodol-dianthrone,
- l'émodol-anthrone, le chrysophanol-anthrone, le physcion-anthrone,
- enfin l'émodol, le chrysophanol, le physcion à l'état libre.

En ce qui concerne les racines fraîches et jeunes, nous n'avons pas trouvé de physcion sous aucune de ses formes.

APPLICATION au CASSIA OCCIDENTALIS L. (graines)

Déjà au siècle dernier, les graines du C. occidentalis ont fait l'objet d'un travail complet de E. HECKEL et F. SCHLAGDENHAUFFEN [63] sur leurs propriétés pharmacologiques en relation avec la composition : ils trouvèrent entre autres du chrysophanol et de l'émodol; enfin, on a signalé une matière violette, dénommée "achrosine" par CLONET d'après TSCHIRCH [64] et des matières colorantes orange et jaune.

En 1925, R. MOUSSU signala la présence d'une toxalbumine, confirmée par C. WEHMER en 1929. Cette toxalbumine serait émétique, mais d'après KHERARO, elle serait détruite lors de la dessication suivie de torréfaction. Cette graine, connue sous le nom de "café nègre", constitue dans les pays tropicaux l'un des meilleurs succédanés du café sans caféine.

Enfin, en 1959, N.M. KING [65] isola du physcion de l'extrait pétrolique des graines.

Nous avons repris l'étude chimique de deux lots de graines entières avec les moyens actuels.

*

* *

1) MATÉRIEL :

1) un lot nous a été confié par M. le Professeur P. JAEGER.
2) un autre lot a été prélevé dans des gousses de l'herbier de M.le Professeur P. JAEGER (plantes récoltées à Dakar en 1966).

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) :

Les graines ont été pulvérisées grossièrement. La poudre, riche en lipides et en mucilages, a été dégraissée à l'éther de pétrole froid, puis soumise à l'analyse dichotomique.

La C.C.M. d'un décocté hydroalcoolique présente 10 taches dont 7 principales. D'après les révélations par KOH d'une part, par HNO_3 puis KOH d'autre part, on peut présumer de la nature anthracénique d'au moins 6 taches.

C. occidentalis
(graines)

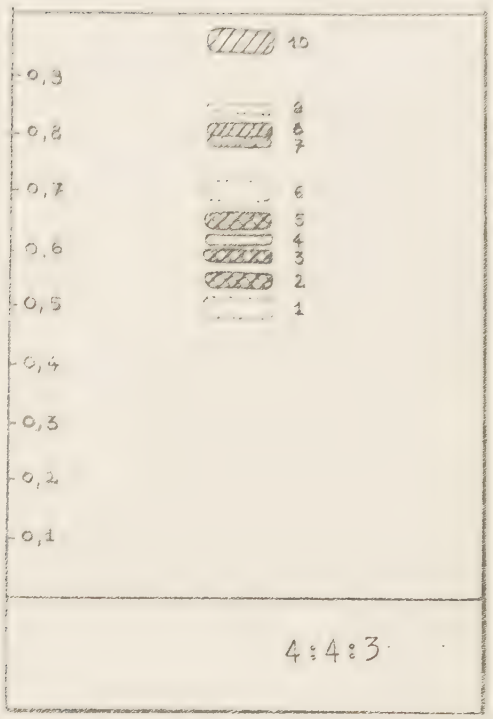


Fig. 11

Tableau XIII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH
10	94-97	rouge-orangé	rouge violet
9	83-85	gris bleu	/
8	80-82	orangé	rosé
7	78-80	rouge sombre	jaune
6	68-72	jaune	/
5	64-66	rouge-orangé	violet
4	60-63	vert très brillant	jaune
3	58-60	rouge sombre	violet
2	53-56	rouge-orangé	rouge-violet
1	48-52	jaune	jaune

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

Effectuée dans le (4:1) :

- La fraction 1 des génines libres montre seulement la présence de physcion R_F 0,71-0,75 et de physcion-anthrone R_F 0,65-0,67.
- La fraction 2 des génines hétérosidiques après hydrolyse renferme : du physcion, du physcion-anthrone et une tache de fluorescence rouge sombre au point d'application due à une dianthrone.
- La fraction 3 ne contient aucun dérivé rhéinique.
- La fraction 4 est identique à la fraction 2.
- La fraction 5 des génines oxydées par $FeCl_3$ est constituée uniquement par du physcion ce qui implique que la dianthrone de la fraction 2 est une dianthrone de physcion.

L'analyse dichotomique montre donc que les graines du C. occidentalis ne renferment que dérivés du physcion sous les trois formes : anthraquinonique, anthronique, dianthronique.

4) ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE : CARACTÉRISATION DES CONSTITUANTS PRINCIPAUX :

La chromatographie préparative sur gel de silice dans le (4:4:3) permet de séparer les divers constituants. Les bandes de gel sont éluées par décoction hydroalcoolique au BM et fournissent les solutions correspondantes.

Solution n° 1 :

Cette solution est trop diluée pour en entreprendre l'analyse. Le jaunissement de la tache correspondante par KOH et l'intensification de sa fluorescence par $AlCl_3$ indiquent un flavonoïde.

Solution n° 2 :

L'hydrolyse au BM pendant 30 min. par HCl 10 % libère des traces de physcion et un composé de fluorescence rouge sombre et de R_F nul dans le (4:1). Après hydrolyse oxydative par $FeCl_3$, ce composé disparaît et il apparaît du physcion en abondance. La solution n° 2 renferme donc un hétéroside de physcion-dianthrone.

Pour essayer de préciser si l'on a affaire à un monoglucoside

ou à un diglucoside, nous avons directement mis en présence au BM la solution n° 2 et une solution aqueuse de $FeCl_3$ en milieu neutre. Dans de telles conditions, l'hétéroside dianthronique donne naissance à un mélange de physcion-monoglucoside (R_F 0,80-0,82 dans le (4:4:3); R_F 0,53-0,55 dans le solvant de HÖRHAMMER : acétate d'éthyle-méthanol-eau (100:16,5:13,5) et de physcion. Puisque nous n'obtenons pas de physcion-diglucoside, la molécule ne comporte pas deux molécules de glucose sur un même noyau de physcion-anthrone. De plus, d'après les valeurs de R_F de l'hétéroside initial dans les divers solvants, nous pouvons présumer qu'il s'agit de physcion-dianthrone-diglucoside.

Solution n° 3 :

Elle renferme l'homodianthrone de physcion à l'état de génine, puisque l'hydrolyse acide ne la scinde pas. La coupure oxydative conduit au physcion. C'est la première fois qu'une telle génine est signalée dans les plantes.

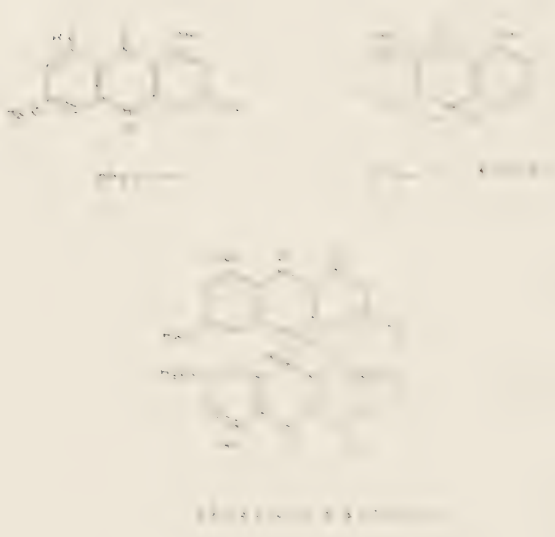
Solution n° 4 :

L'intensité de fluorescence de la tache n° 4 est très vive. Cette fluorescence verte est encore accentuée par $AlCl_3$. Le spectre d'absorption UV présente trois maximums : 350 nm, 328 nm, 270 nm, et un minimum à 242 nm. La nature de ce constituant n'est pas élucidée.

Solution n° 5 :

Les résultats de son analyse sont parallèles à ceux obtenus pour la solution n° 2. L'hydrolyse acide libère une dianthrone qui, scindée et oxydée par $FeCl_3$, conduit au physcion. La partie glucidique est identifiée au glucose. Le spectre UV montre deux bandes d'absorption (364 nm, 242 nm). Ce spectre est caractéristique d'une forme dianthrone. Il s'agit vraisemblablement d'un monoglucoside de physcion-dianthrone ou d'un isomère de position du diglucoside de physcion-dianthrone, constituant la solution n° 2.

Tableau XIV



Solution n° 6 :

Trop diluée, elle n'a pu être étudiée.

Solution n° 7 :

L'hydrolyse acide au BM pendant 15 min., libère physcion-anthrone et glucose. Une oxydation ferrique transforme l'anthrone en physcion, caractérisée dans le (4:1).

Cette solution renferme donc un monoglucoside de physcion-anthrone dont le R_F en C.C.M. dans le solvant de HÖRHAMMER est de 0,49-0,51.

Solution n° 8 :

L'hydrolyse de cette solution conduit directement au physcion et au glucose. Le R_F de ce composé est de 0,51-0,53 dans le solvant de HÖRHAMMER, ce qui correspond à l'un des deux physcion-monoglucosides isomères.

Solution n° 9 :

Ce sont les anthraquinones libres déjà étudiées.

5) LOCALISATION HISTOCHIMIQUE DES ANTHRAQUINONES DANS UNE GRAINE ENTIÈRE :

La structure histologique d'une graine entière observée en

coupe transversale au microscope montre de l'extérieur vers l'intérieur les tissus suivants :

a) le tégument externe : formé d'une seule assise de cellules transparentes et d'une assise de tissu palissadique, puis une assise de cellules à épaississements en fer à cheval.

b) le tégument interne : formé d'un tissu spongieux à contenu brun.

c) un albumen corné.

d) deux cotylédons de couleur jaune intense.

On plonge des coupes transversales de graine dans l'ammoniaque concentrée pendant quelques secondes; on monte dans l'huile de vaseline. Le tissu spongieux du tegmen, brun auparavant, vire au brun-rouge. Ce virage est difficile à observer mais comme aucun autre tissu ne présente de réaction de BORNTRAEGER positive, il est vraisemblable que les anthraquinones sont localisées à ce niveau. Les cotylédons ne renferment aucun dérivé anthracénique.

*

* *

Conclusion

D'après les résultats précédents, la graine entière du C. occidentalis contient :

- génines libres : physcion, physcion-anthrone, physcion-dianthrone.
- hétérosides : physcion-monoglucoside, physcion-anthrone-monoglucoside, physcion-dianthrone-diglucoside, physcion-dianthrone-diglucoside isomère ou monoglucoside.

Tous ces dérivés se trouvent donc sous les formes oxydée, réduite et dimère du physcion. Les hétérosides sont tous des glucosides. C'est la première fois, à notre connaissance, que des formes dimères du physcion sont décelées dans le règne végétal.

Gousses du Cassia occidentalis L. privées de graines

L'analyse dichotomique effectuée sur un décocté de gousses

privées de leurs graines, a montré l'absence totale de dérivés anthraquinoniques. On retrouve par contre deux flavonoïdes présents dans les folioles du C. occidentalis, mais en très faible quantité. Leur R_F dans le (4:4:3) correspond aux taches n° 1 et n° 2 du chromatogramme d'un décocté de folioles (respectivement 0,49-0,52 et 0,57-0,62).

Plantules de Cassia occidentalis L.
(après sept jours de germination)

Après incision des téguments, les graines sont trempées durant trois heures dans de l'eau distillée et placées à l'étuve à 28° C, en atmosphère humide sur du coton dans des boîtes de Pétri. Leur pouvoir germinatif, très élevé, atteint 99 %. Après sept jours, les différentes parties des jeunes plantules sont stabilisées dans de l'alcool bouillant. On stabilise ainsi :

1) les téguments séminaux coiffant les deux feuilles cotylédonaires,
2) les deux feuilles cotylédonaires, non encore épanouies,
3) les hypocotyles,
4) les radicules..

1) ANALYSE DES TÉGUMENTS SÉMINAUX :

Après hydrolyse, on caractérise le physcion dans le (4:1).

2) ANALYSE DES FEUILLES COTYLÉDONAIRES :

La C.C.M. dans le (4:4:3) de l'alcoolature stabilisée donne huit taches :

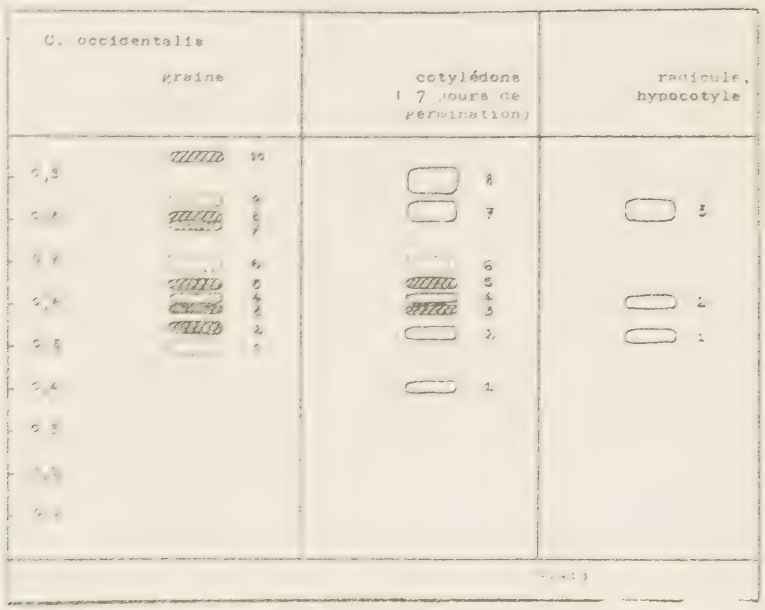


Fig. 12

Tableau XV : cotylédons après 7 jours de germination

n°	R_F x 100	fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH
8	86-93	gris-bleu	/
7	80-85	bleu franc	/
6	68-72	jaune-vert	/
5	64-67	rouge-orangé	rouge-violet
4	60-63	jaune-vert	jaune
3	58-60	orangé-brun	rouge-violet
2	52-55	jaune	jaune
1	40-42	jaune-vert	jaune

Remarquons que dans les cotylédons il n'y a pas d'anthraquinone libre; les deux dérivés anthracéniques présents sont sous forme hétérosidique.

L'hydrolyse acide libère du chrysophanol et du physcion. L'apparition de chrysophanol indique que la synthèse de cette anthraquinone a lieu au début de la germination dans les cotylédons.

3) ANALYSE DES RADICULES ET DES HYPOCOTYLES :

Les chromatogrammes dans le (4:4:3) sont identiques. On obtient trois taches :

Tableau XVI

n°	R_F x 100	fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH
3	80-85	bleu franc	/
2	60-63	jaune-vert	jaune
1	52-55	jaune	jaune

L'analyse dichotomique montre l'absence de dérivés anthracéniques.

4) LOCALISATION HISTOCHIMIQUE DES ANTHRAQUINONES DANS LES COTYLÉDONS APRÈS DIX JOURS :

Ces cotylédons présentent au microscope une structure de feuille avec du tissu palissadique à la face supérieure et du tissu lacuneux à la face inférieure.

Des coupes transversales dans les cotylédons sont trempées quelques secondes dans l'ammoniaque concentrée, puis montées dans l'huile de vaseline. Seul le contenu des cellules du tissu lacuneux se colore en rouge-orangé (réaction de BORNTRAEGER), ce qui confirme l'apparition de chrysophanol. Le contenu des cellules du tissu palissadique reste jaune.

*

* *

Conclusions

L'analyse chimique des divers organes du C. occidentalis montre une grande abondance de dérivés anthracéniques dans les racines et dans les graines où existent notamment des formes dimères. Les folioles et le péricarpe ne renferment pratiquement pas d'anthraquinones. Il est intéressant de noter que les carpelles, considérés comme des feuilles transformées dans la théorie des métamorphoses, ont sensiblement même composition que les feuilles

On peut penser que la biosynthèse des anthraquinones ne s'effectue pas dans les folioles, ou bien que si elle s'y effectue, les anthraquinones nouvellement synthétisées migrent aussitôt vers les racines, lieux d'élection pour leur accumulation.

Quoiqu'il en soit, puisque nous trouvons quand même des traces de physcion-dianthrone dans les folioles, nous constatons que toutes les parties d'une plante adulte, y compris les graines, renferment du physcion.

En examinant tous les résultats recueillis et notamment ceux obtenus avec les plantules âgées de 7 jours, l'on peut dire que les radicules ne synthétisent pas d'anthraquinone à leur

début et les feuilles cotylédonaires, centre énergétique par excellence, produisent du chrysophanol dans les premières étapes. En effet, la graine mûre entière ne contient du physcion que dans les téguments séminaux. Ces téguments n'ont qu'un rôle de protection et tombent lors de la germination.

Dans les racines de jeunes plantes de six mois d'âge a lieu la synthèse du chrysophanol et de l'émodol, mais le physcion y est encore absent. Ce n'est que dans les racines âgées que le physcion s'accumule sous toutes ses formes.

Remarquons enfin que chez les plantes que nous avons cultivées à Strasbourg durant 6 mois (de mars à septembre), c'est-à-dire en dehors des conditions climatiques chaudes et très pluvieuses des régions tropicales où croît généralement C. occidentalis, la formation des anthraquinones et des flavonoïdes n'a été en rien entravée.

Chapitre VII.- APPLICATION au CASSIA PUNCTATA Vog. (folioles)

Le C. punctata est une espèce d'Amérique tropicale. A notre connaissance aucune étude chimique n'a été effectuée à son sujet et aucun usage empirique éventuel n'est décrit dans la littérature.

*
* *

1) MATÉRIEL :

Le matériel étudié (folioles et gousses) a été récolté pour nous en 1966 au Brésil, par le Professeur E.A. MOREIRA de Curitiba.

Les folioles portent à leur surface de petites "glandes" noires qui, examinées à la loupe binoculaire, apparaissent plutôt comme des sécrétions. Après avoir effectué un entraînement par la vapeur d'eau en utilisant un mélange d'eau et de glycérine dans l'appareil de la Pharmacopée française pour le dosage des huiles essentielles, nous n'avons obtenu qu'une petite quantité de "stéaroptène", mais pas d'huile essentielle à proprement parler. Le produit se solidifie par refroidissement et donne après extraction par l'éther, une masse microcristalline, incolore, à peu près inodore, et fondant vers 120° C.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

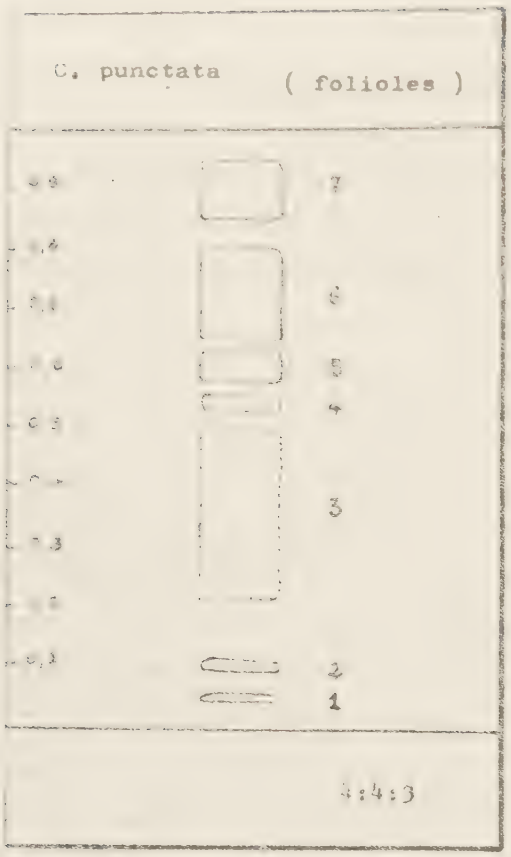


Fig. 13

Tableau XVII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV 366 nm après $AlCl_3$
7	85-95	brun-rougeâtre	brun rosé	brun
6	65-80	brun-jaune	jaune intense	jaune très vif
5	58-63	jaune-vert	jaune pâle	jaune vif
4	53-56	jaune	jaune	jaune vif
3	22-50	bleu-vert	traînée brune	bleu-vert
2	10-12	bleu	/	bleu
1	05-06	bleu	/	bleu

Aucune anthraquinone n'est visible après traitement par KOH. De plus, les taches jaunes après KOH ne sont pas anthroniques, puisque la révélation nitro-potassique ne donne pas de coloration brun-pourpre mais plutôt jaune-brun.

3) RÉSULTATS DE LA MÉTHODE DICHOTOMIQUE :

Ils confirment l'examen direct : aucun dérivé anthracénique n'est décelable.

4) CARACTÉRISATION DES CONSTITUANTS PRINCIPAUX :

Une décoction aqueuse de folioles, placée au B.M. en présence d'HCl à 10 %, devient rouge cerise après quelques minutes. Ce pigment est extractible par le n-butanol et le n-pentanol. Il existe donc vraisemblablement une leucoanthocyanne que l'on transforme en anthocyanidol rouge.

Afin d'étudier le constituant n° 6 qui nous paraissait être le plus important, nous avons fait des extractions au Soxhlet d'une poudre de folioles. L'analyse des premiers extractifs (éther de pétrole, chloroforme, éther) n'a pas été fructueuse. La fraction suivante, éthanolique, renferme un liquide très huileux. Nous avons dû l'épuiser par de l'éther de pétrole qui le solubilise. La fraction éthanolique purifiée est alors chromatographiée dans le (4:4:3) en chromatographie préparative sur gel de silice. La bande n° 6 est éluée à l'alcool au B.M. L'éluat donne une coloration saumon virant au violet après quelques instants dans la réaction de SHINODA.

L'éluat n° 6 est purifié sur colonne de cellulose Whatman CF 11 au moyen d'acide acétique à 30 %. Après concentration sous vide, les fractions intéressantes sont étudiées.

Le composant n° 6 n'est pas hydrolysable par HCl à 25 %. Même après 30 minutes, aucune trace de génine n'est décelable. Ceci nous a fait penser à l'existence d'un C-hétéroside, et plus particulièrement à vitexine puisque son R_F en C.S.P. dans le (4:1:5) est de 0,64 (R_F de 0,63 pour la vitexine d'après L. JURD, T.A. GEISSMAN et M.K. SEIKEL)[55] et de 0,78-0,80 en C.C.M. dans le solvant acétate d'éthyle-acide formique-eau (100:20:30)(R_F de 0,79 pour la vitexine d'après B. CLOTZBACH et H. RIMPLER)[56]. En C.S.P. les R_F sont de 0,15 dans l'eau et de 0,50 dans l'acide acétique à 30 %.

Le spectre UV de la solution éthanolique présente deux maxi-

mums à 336 nm et à 271 nm. Il est du type apigénine.

Ces résultats sont compatibles avec la vitexine déjà caractérisée dans les folioles du C. occidentalis.

Application au Cassia punctata Vog. (gousses)

Les gousses ne renferment aucun dérivé anthracénique. La C.C.M. dans le (4:4:3) d'un extrait alcoolique de gousses ne fait apparaître à la lumière du jour que des traînées brun-rosé. Ces traînées virent au jaunâtre après pulvérisation de KOH.Quelques traces de flavonoïdes peuvent être décelées après action d'$AlCl_3$ et examen en lumière UV; leurs R_F sont de 0,48-0,52 et de 0,65-0,69 en C.C.M. dans le (4:4:3).

*

* *

Conclusion

Les folioles et les gousses du C. punctata ne renferment aucun dérivé anthracénique. Si elles étaient purgatives, leur action ne serait certainement pas déterminée par les constituants habituels des autres Cassia.

Chapitre VIII.- APPLICATION au CASSIA SPECTABILIS D.C. (folioles)

Petit arbre pantropical originaire d'Amérique et introduit en Afrique, le C. spectabilis ne semble pas avoir d'usage pharmacologique empirique. Surtout ornemental, il a été expérimenté dans le reboisement des terres dégradées [59].

*

* *

1) MATÉRIEL :

Il a été récolté en décembre 1958 au jardin de l'IFAN (Dakar) par le Professeur P. JAEGER.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN EXTRAIT ALCOOLIQUE TOTAL :

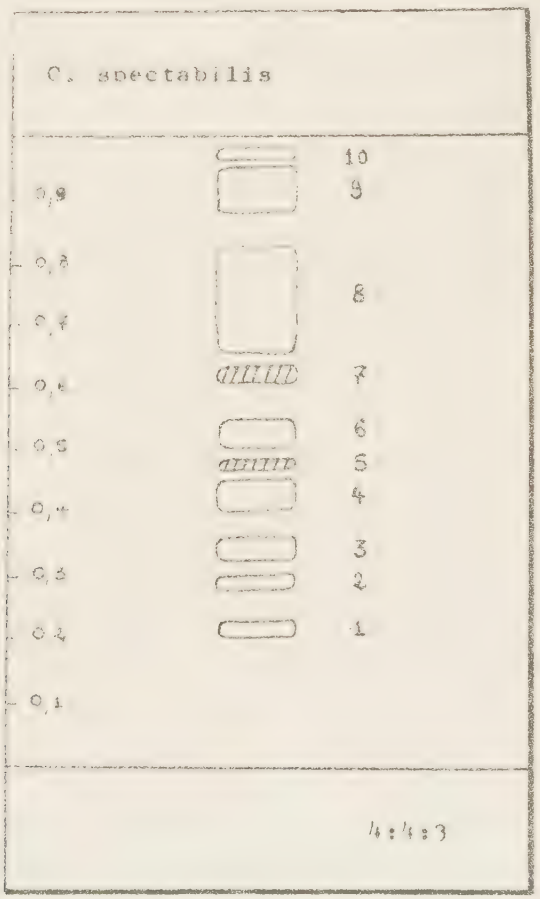


Fig. 14

Tableau XVIII

N°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV 366 nm après $AlCl_3$
10	96-98	orangé faible	rose-violet	orangé
9	88-95	jaune	jaune	jaune
8	65-82	bleu ciel	/	bleu ciel
7	61-63	orangé	rosé	orangé
6	50-55	brun foncé	jaune intense	jaune très vif
5	47-49	orangé	rosé	orangé
4	40-45	jaune	jaune	jaune
3	32-36	bleu-violet	/	bleu-violet
2	28-30	jaunâtre	jaune	/
1	20-23	jaunâtre	jaune	/

Les taches N° 5, n° 7 et n° 10 sont de nature anthraquinonique.

La révélation nitro-potassique ne révèle pas de forme anthrone.

3) RÉSULTATS DE LA MÉTHODE DICHOTOMIQUE :

- La fraction 1 des génines libres renferme du physcion.
- La fraction 2 des génines hétérosidiques contient du physcion et du chrysophanol en quantité égale.

Il n'y a pas de forme rhéinique.

4) ÉTUDE DU COMPOSANT n° 6 :

Ce composant de R_F 0,50-0,55 dans le (4:4:3) est très dominant, c'est pourquoi nous avons effectué une chromatographie préparative sur gel de silice du décocté dans le (4:4:3). Après élution de la bande de gel par de l'alcool à 50° au BM, la C.S.P. dans le (4:1:5) montre une tache de R_F 0,32 à fluorescence violine virant au jaune vif après action d'$AlCl_3$. Le spectre UV présente les caractères suivants :

- spectre direct dans l'alcool à 75° : λ max. : 328 nm et 270 nm.

Ce spectre est du type apigénine.

- par $AlCl_3$: λ max. : 375 nm et 340 nm; 302 nm et 277 nm.
  La position 5 porte un -OH libre.
- par CH_3COONa : λ max. : 373 nm et 280 nm.
  La solution jaunit très nettement. L'effet bathochrome sur les deux bandes indique que les positions 7 et 4' doivent porter des -OH libres.
- par addition de BO_3H_3 : λ max. : 343 nm et 271 nm.
  Le spectre tend à redonner les bandes initiales. Il n'y a vraisemblablement pas deux -OH en ortho.

L'hydrolyse par HCl 25 % au BM est complète après 60 minutes. Mais la génine libérée est peu soluble dans l'éther, plus soluble dans le n-butanol. La C.S.P. dans le (4:1:5) de ces deux fractions est identique et montre une tache de R_F 0,87, de fluorescence jaune pâle s'accentuant par $AlCl_3$.

Le flavonoïde n° 6 n'est donc pas un C-hétéroside mais un O-hétéroside.

Le spectre UV de la génine a été effectué sur une fraction butanolique, évaporée à sec sous vide et reprise par de l'alcool absolu :

- spectre direct : λ max. : 322 nm et 272 nm.
- par CH_3COONa : λ max. : 372 nm et 281 nm.
  Le déplacement des bandes indique que les positions 7 et 4' sont pourvues d'un -OH libre.
- par addition de BO_3H_3 : λ max. : 350 nm et 279 nm.
  Ce dernier résultat semble montrer la présence de deux -OH en ortho. La scutellaréine est à exclure car elle absorbe plus loin dans le visible, de même que la baïcaléine puisqu'elle ne comporte pas d'-OH en 4'. Les autres flavones 5-7-8-4' hydroxylées étant mal connues, nous ne pouvons conclure quant à la nature exacte de cette flavone.

*
* *

Conclusion

Les folioles du C. spectabilis ne semblent pas très riches

en dérivés anthracéniques. Elles renferment néanmoins du chrysophanol et du physcion libres, deux hétérosides de ces derniers et un flavonoside 5-7-4' hydroxylé. Des essais pharmacologiques mériteraient d'être entrepris pour savoir quelle serait l'activité purgative de cette espèce.

Chapitre IX.- APPLICATION au CASSIA ALATA L. (folioles)

Egalement connu sous le nom de C. herpetica Jacq., le Dartrier est un arbrisseau originaire d'Amérique tropicale. Introduit en Afrique, en Asie (Malaisie), et au siècle dernier en Australie, c'est actuellement un cosmopolite tropical.

Son fruit est très riche en oxyméthylanthraquinones puisque E. MAURIN [2] en a évalué une teneur de 2,2 %. Un échantillon de folioles provenant de Madagascar fut étudié par P. DUQUÉNOIS en 1959 [3] qui mit l'accent sur l'abondance en anthraquinones et en hétérosides.

Les folioles, surtout utilisées comme substitut du Séné pour leurs propriétés purgatives, sont un remède précieux dans les pays d'origine contre les maladies de la peau (dartres, impétigos, herpès, maladies pustulaires)[37]. Grillées, elles constitueraient un succédané du café.

*
* *

1) MATÉRIEL :

Un lot de folioles offert par un importateur d'Amsterdam.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

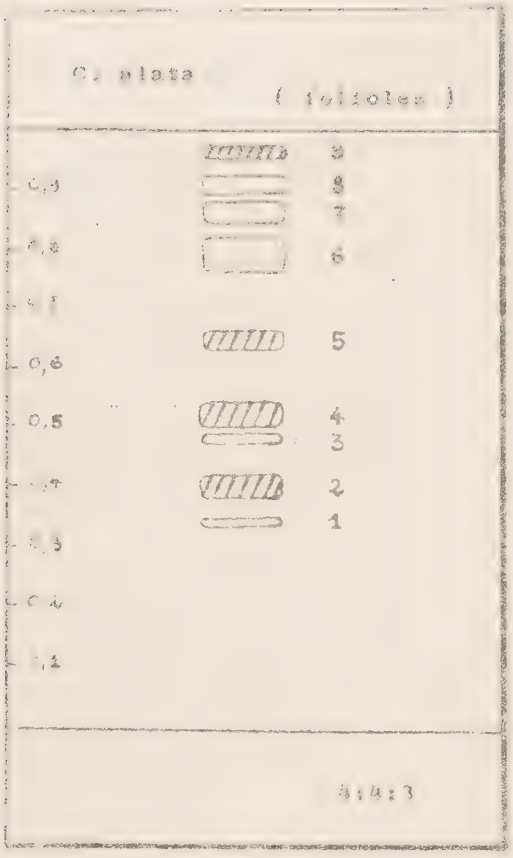


Fig. 15

Tableau XIX

N°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV 366 nm après $AlCl_3$
9	95-97	orangé	rosé	orangé
8	88-93	jaune	jaune	jaune-vert vif
7	84-87	bleu clair		
6	76-82	jaune-vert	jaune	jaune-vert
5	63-66	orangé	rosé	orangé
4	50-54	rouge-orangé	rouge-violet	orangé
3	47-49	jaune	jaune	jaune
2	38-42	rouge-orangé	rouge-violet	orangé
1	33-35	jaunâtre	jaunâtre	jaune clair

3) RESULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : génines libres : traces d'aloeémodol libre; rhéine en quantité très abondante confirmée entre autres par ses caractères et ses R_F en C.C.M. dans le (4:4:3) et le solvant de HÖRHAMMER [61].
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : aloeémodol et rhéine.

La tache n° 2 correspond au rhéine-glucoside témoin dans le (4:4:3) et présente le R_F de 0,09-0,11 en C.C.M. dans le solvant: acétate d'éthyle-méthanol-eau (100:16,5:13,5).

La tache n° 4 est constituée par de la rhéine libre.

Le composant n° 5 est un hétéroside d'aloeémodol en faible quantité.

La tache n° 9 correspond à l'aloeémodol libre.

4) ÉTUDE DU FLAVONOÏDE N° 8 :

Une chromatographie préparative (adsorbant : gel de silice; solvant : acétate d'éthyle-méthanol-eau 100:16,5:13,5) d'un extrait alcoolique de folioles est développée. La bande flavonoïdique frontale est éluée par de l'alcool à 95°. Le contrôle chromatographique montre qu'il s'agit du flavonoïde n° 8.

Toutes les C.S.P. effectuées montrent des R_F compatibles avec ceux d'une génine d'une part et identiques au kaempférol témoin :

- C.S.P. dans le (4:1:5) : R_F de 0,83.
- C.S.P. dans le Forestal (acide acétique conc.-acide chlorhydrique-eau 30:3:10) : R_F de 0,55.
- C.S.P. dans l'acide acétique à 60 % : R_F de 0,51.
- C.S.P. dans l'acide acétique à 15 % : R_F de 0,04.

La fluorescence UV des taches, jaune-vert, est intensifiée par pulvérisation d'$AlCl_3$. La réaction de SHINODA in vitro conduit à une coloration rose violacé.

Spectres de la solution éthanolique n° 8 :

- Spectre direct : λmax. : 364 nm et 267,5 nm.

  L'allure de ce spectre est compatible avec celle d'un flavonol (kaempférol notamment).

- Par $AlCl_3$: λ max. : 418 nm, 348 nm et 302 nm, 271 nm.
  Une intense fluorescence verte se développe. L'effet bathochrome avec dédoublement de la bande I montre que ce flavonol possède un -OH libre en 5.
- Par CH_3COONa : λ max. : 385 nm et 275 nm.
  Une légère coloration jaune apparaît. L'effet bathochrome sur la bande I et le déplacement de la bande II indiquent que ce flavonol porte un -OH libre en 7.
- Par CH_3COONa et BO_3H_3 : λ max. : 364 nm et 268 nm.
  La solution se décolore et l'on revient au spectre initial. La molécule ne possède pas deux -OH libres en ortho.

L'étude de ces spectres montre que la solution n° 8 est constituée par un flavonol dont les -OH en 3,5,7, sont libres et qui ne possède pas deux -OH libres en ortho. Ces caractères sont ceux du kaempférol.

*

* *

Conclusion

Les folioles du C. alata L. semblent riches en dérivés anthracéniques puisqu'elles renferment :

- du rhéine-glucoside,
- de la rhéine libre,
- un hétéroside d'aloeémodol,
- des traces d'aloeémodol libre.

En outre divers flavonoïdes ont pu y être décelés et notamment du kaempférol libre a été caractérisé.

Cette composition chimique confirme les propriétés purgatives et dermatologiques de cette espèce.

Chapitre X.- APPLICATION au CASSIA SIAMEA Lam. (folioles)

Originaire du Siam, des Indes et de la Malaisie, cet arbre a été introduit en Afrique pour y constituer une essence de reboisement [59], ainsi qu'en Amérique tropicale.

Ce sont principalement les écorces du tronc, de la racine et le bois qui ont fait l'objet d'une étude chimique. A. CHATTERJEE et S.R. BHATTACHARJEE [66] ont isolé de la partie externe de l'écorce, trois pigments dianthraquinoniques (cassianine, siaméanine, siaméadine) dont les structures ont été envisagées. Ce sont des hétérodianthraquinones de chrysophanol et d'émodol et une homodianthraquinone de chrysophanol. Un autre pigment dénommé cassiamine fut découvert par M.L. DUTTA, A.C. GHOSH, P.M. NAIR et K. VENKATARAMAN [67] dans l'écorce de la racine. Il s'agit également d'une hétérodianthraquinone de chrysophanol et d'émodol.

*
* *

1) MATÉRIEL :

- un lot récolté par le Professeur P. JAEGER en septembre 1958 dans le Parc Biologique de Bamako (République du Mali).
- une planche d'herbier provenant du jardin de l'IFAN à Dakar (Sénégal).
- un lot offert par un importateur d'Amsterdam.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

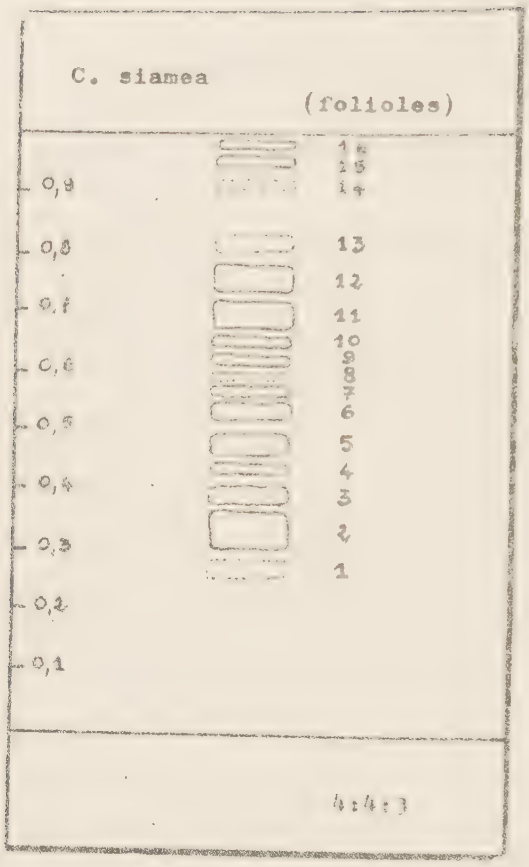


Fig. 16

Tableau XX

N°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV 366 nm après $AlCl_3$
16	97-99	jaune clair	/	bleu ciel
15	94-96	brun	jaune	bleu ciel
14	90-92	jaune	/	/
13	80-83	jaune	/	/
12	73-78	brun	jaune	jaune
11	67-72	gris bleu	/	/
10	64-66	brun	jaune intense	jaune intense
9	61-63	jaune vif	jaune	jaune vif
8	59-60	orangé clair	/	/
7	56-58	jaune vif	jaune intense	jaune intense
6	52-55	jaune-vert	jaune	jaune
5	46-50	jaune-vert	"	"
4	43-45	"	"	"
3	38-41	"	"	"
2	31-37	brun	jaune	jaune vif
1	26-29	jaune-vert	/	jaune

Malgré l'extrême variété des substances décelées, la révélation potassique ne fait apparaître aucun dérivé anthraquinonique. Par contre, accompagnée des examens UV avant et après $AlCl_3$, elle laisse présager la présence d'un grand nombre de flavonoïdes.

WELLS [68] a signalé en 1919 un alcaloïde toxique dans le bois du tronc. La pulvérisation par le réactif de DRAGGENDORF d'un chromatogramme sur couche mince du décocté de folioles fait apparaître deux taches brun rouge intense. Ces folioles renferment donc deux alcaloïdes localisés à R_F 0,53-0,56 et 0,68-0,70. Ces alcaloïdes ne sont pas visibles sans révélateur.

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : absence de génine libre.
- Fraction 2 : pas de génine hétérosidique monoanthraquinonique.
- Fraction 5 : en traitant les hétérosides par $FeCl_3$ et HCl au BM pendant 90 minutes, on extrait à l'éther du chrysophanol et des traces de physcion. Mais en traitant les hétérosides par le dithionite de Na, aucune anthraquinone n'est décelable, ce qui montre qu'il n'existe pas de forme dianthraquinonique comme celles présentes dans l'écorce.

4) ÉTUDE DE LA SUBSTANCE n° 16 :

La substance n° 16 a été obtenue en solution alcoolique après chromatographie préparative sur gel de silice dans le (4:4:3). La C.S.P. dans le (4:1:5) présente une seule tache de R_F 0,91. Sa fluorescence directe jaune clair vire au bleu ciel sous l'action de $AlCl_3$. D'autre part, la réaction de SHINODA tentée sur la solution alcoolique conduit à une décoloration de cette solution.

Le spectre UV de la solution n° 16 diluée environ au 1/12^e dans l'éthanol présente les caractéristiques suivantes :

- Le spectre direct montre une forte bande à 281 nm (bande II). La bande I est réduite à un épaulement vers 324 nm. L'allure de ce spectre et les λ max. s'accordent avec ceux d'une flavanone.

- Par addition d'$AlCl_3$, un faible effet bathochrome déplace la bande II à 303 nm, ce qui est habituel chez les 5-hydroxy-flavanones.
- L'action de l'acétate de Na détermine un léger jaunissement et le déplacement de la bande II (λ max. 334 nm), comme celui de l'épaulement (λ 400 nm). Ce déplacement important peut caractériser un -OH libre en 7.
- L'addition d'acide borique décolore à nouveau la solution et le spectre reprend l'aspect primitif.

La substance n° 16 est donc une flavanone 5,7-hydroxylée.

L'allure des spectres directs de naringétol (λ max. 289nm; ép. 330 nm) et d'hespérétol (λ max. 287 nm; ép. 330 nm) témoins, est analogue à celle du spectre précédent. Par contre les résultats de la C.S.P. dans le (4:1:5) de ces solutions permettent d'exclure toute identification à l'une de ces deux flavanones témoins : le naringétol et l'hespérétol ayant un R_F de 0,93, une fluorescence violine virant au jaune verdâtre très intense après action d'$AlCl_3$. La flavanone n° 16 a des caractères différents.

APPLICATION au CASSIA SIAMEA Lam. (péricarpe des gousses)

Nous ne disposions que d'une seule gousse prélevée sur une planche d'herbier récoltée à Kabala (Sierra Leone) en octobre 1945 par le Professeur P. JAEGER. Cette gousse, légèrement courbe et plate, d'une longueur de 18 cm environ, a été privée des quelques graines qu'elle renfermait, pulvérisée grossièrement et analysée.

*

* *

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

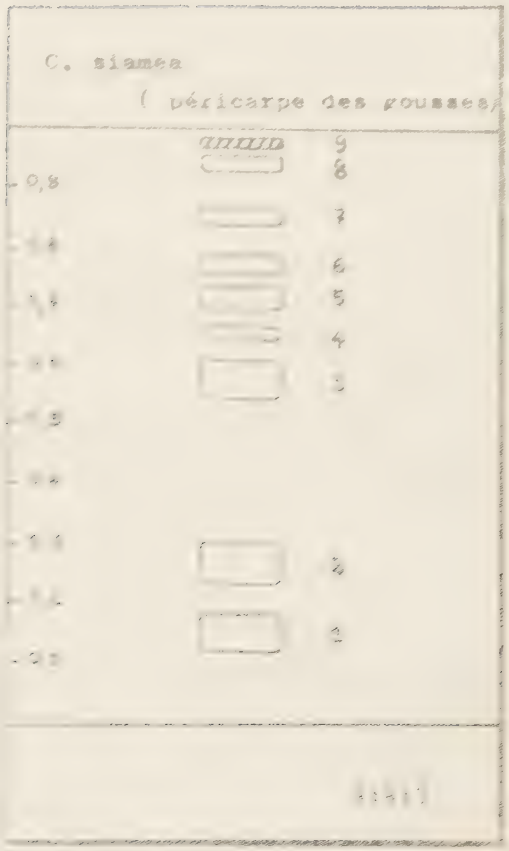


Fig. 17

Tableau XXI

n°	R_f x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
9	96-98	orangé clair	rouge	orangé clair
8	92-93	bleu ciel	jaune	bleu clair
7	83-86	gris-bleu	jaune	bleu-violet
6	75-78	gris-bleu	jaune	bleu-violet
5	63-73	jaune	jaune-brun	jaune
4	54-56	brun	beige	brun
3	34-61	jaune-vert très vif	vert émeraude	jaune-vert très brillant
2	23-30	brun	jaune	brun
1	12-18	brun	brun	brun

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : génines libres : traces de chrysophanol et d'émodol.
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : chrysophanol et émodol en faible quantité.

Les hétérosides anthraquinoniques ne sont présents qu'en petite quantité et nous n'avons pu les localiser sur les chromatogrammes.

La révélation d'un chromatogramme par le réactif de DRAGGENDORF ne met en évidence aucun alcaloïde.

APPLICATION au CASSIA SIAMEA Lam. (fleurs)

Une inflorescence corymbiforme groupant une vingtaine de fleurs au sommet de chacun des rameaux a été récoltée et mise en herbier en 1958 à Bamako (République du Mali) par le Professeur P. JAEGER.

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

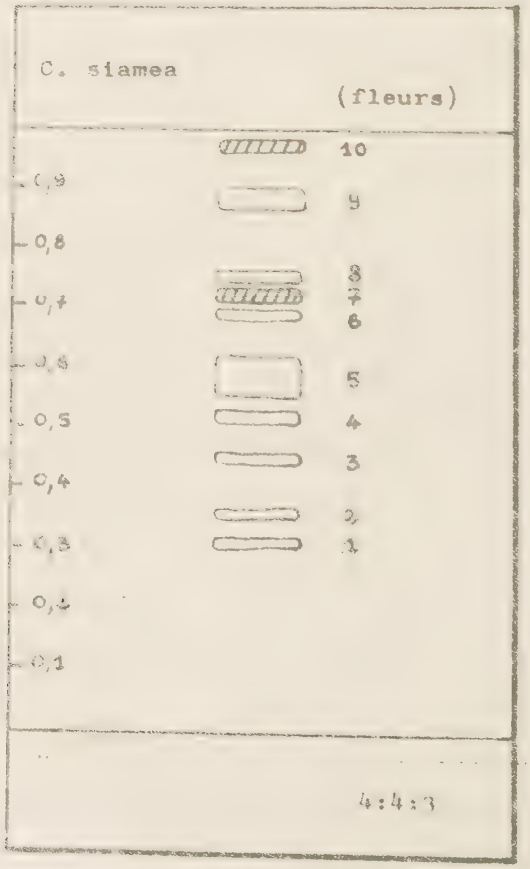


Fig. 18

Tableau XXII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
10	96-98	orangé	rosé	orangé
9	86-90	bleu-violet	/	bleu-violet
8	74-76	bleu-gris	/	bleu-gris
7	71-73	orangé	rosé	orangé
6	68-70	jaune	jaune	jaune
5	55-62	jaune-vert très fluorescent	jaune-vert	vert-bleu
4	51-53	jaune	jaune	jaune
3	44-46	jaune	jaune	jaune
2	35-37	jaune	jaune	jaune
1	30-32	jaune	jaune	jaune

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : génines libres : chrysophanol, traces de physcion.
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : chrysophanol.

La tache n° 7 faible est constituée par un hétéroside de chrysophanol.

Les fleurs ne renferment pas d'alcaloïde.

*

* *

Conclusions

Les folioles et le péricarpe des gousses du C. siameane renferment que des traces de dérivés anthracéniques.

- Ce n'est qu'après hydrolyse oxydante que du chrysophanol et des traces de physcion peuvent être mis en évidence dans les folioles. Celles-ci, riches en flavonoïdes, contiennent deux alcaloïdes et une 5,7-hydroxyflavanone.
- Des traces de chrysophanol et d'émodol ainsi que de petites quantités d'hétérosides de ces deux génines ont été décelées

dans le péricarpe des gousses. Celui-ci est exempt d'alcaloïde, de même que les fleurs.

Les fleurs, plus riches en dérivés anthracéniques, renferment un hétéroside de chrysophanol, du chrysophanol et des traces de physcion.

Chapitre XI.- APPLICATION au CASSIA MIMOSOIDES L. (folioles)

Le C. mimosoides est une herbe parfois arbustive commune au Brésil, en Afrique tropicale, en Inde, en Indonésie, en Australie. Ses petites folioles, au nombre de 30 à 70 paires par feuille, seraient utilisées pour leurs propriétés purgatives et dermatologiques [37]. Le dosage des dérivés anthracéniques effectué par E. MAURIN [2] et plus tard par P. DUQUÉNOIS [3] a permis à ce dernier auteur de classer le C. mimosoides parmi les espèces assez faiblement purgatives.

*
* *

1) MATÉRIEL :

- deux lots de folioles ont été récoltés par le Professeur P. JAEGER :
  - le 21 août 1945 dans une prairie d'altitude des Monts Loma (Sierra Leone),
  - le 15 septembre 1951 sur les dalles gréseuses du Massif de Kita (République du Mali).
- un troisième lot a été récolté à Madagascar et déterminé pour nous par le Professeur P. BOITEAU sous le nom vernaculaire de "Kelimanendilanitra".

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) :

Les C.C.M. des décoctés de ces lots de folioles sont identiques. Les révélations potassique et nitro-potassique ne mettent en évidence aucune forme anthrone mais deux hétérosides anthraquinoniques (taches n° 3 et n° 5) et des anthraquinones libres (tache n° 8).

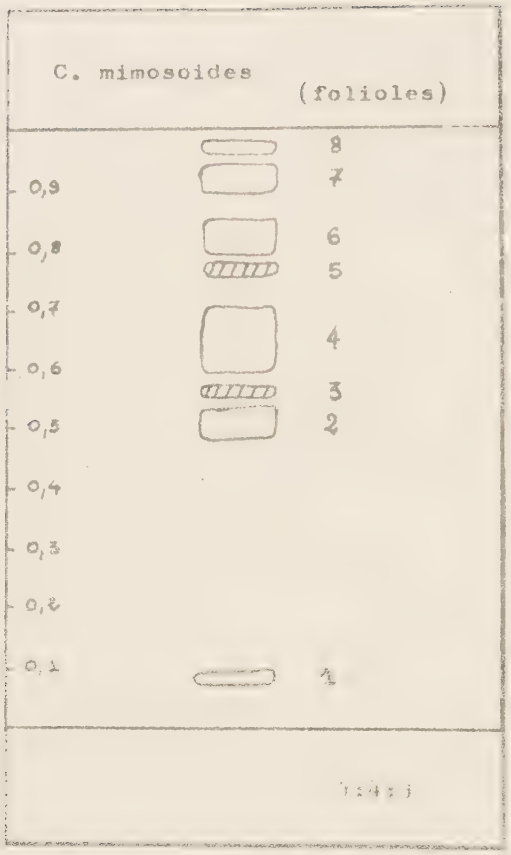


Fig. 19

Tableau XXIII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
8	95-98	orangé	rosé	orangé
7	90-94	brun	jaune	vert intense
6	78-85	brun	jaune-vert intense	vert très intense
5	75-77	orangé	rosé	orangé
4	60-70	brun	jaune	jaune
3	55-57	orangé	rose-violet	orangé
2	49-54	brun	brun-jaune	jaune
1	08-10	bleu ciel	/	/

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

Fraction 1 : génines libres : chrysophanol, physcion, traces

d'émodol.

- Fraction 2 : génines hétérosidiques : chrysophanol et physcion en quantité très importante et égale; traces d'émodol.

Il n'y a pas de forme rhéinique ni anthronique.

4) ÉTUDE DU FLAVONOÏDE n° 7 :

Ce flavonoïde très dominant en C.C.M. a été séparé par chromatographie préparative sur gel de silice dans le (4:4:3), puis élué par de l'alcool à 50°. Il s'agit d'une génine car l'hydrolyse ne la touche pas et son R_F en C.S.P. dans le (4:1:5) est de 0,91 (R_F d'ailleurs identique à l'apigénine témoin). Sa fluorescence violine vire au jaune par action d'$AlCl_3$.

Le spectre UV de la solution n° 7 présente les maximums suivants :

- spectre direct : λmax. : 333 nm et 269 nm.
- par $AlCl_3$: λmax. : 373 nm, 342 nm et 303 nm, 278 nm.
  L'effet bathochrome sur les deux bandes indique un -OH libre en 5.
- par CH_3COONa : λmax. : 386 nm et 279 nm.
  Le déplacement des bandes du spectre initial montre que les -OH en 7 et 4' sont libres.
- par addition de BO_3H_3 : λmax. : 335 nm et 269 nm.
  L'addition d'acide borique ramène le spectre initial; il n'y a pas deux -OH libres en ortho.

Les caractères chromatographiques et spectraux sont compatibles avec ceux de l'apigénine.

En ce qui concerne le flavonoïde n° 6, notons qu'il possède un R_F de 0,84 en C.S.P. dans le (4:1:5) et une fluorescence violine virant au jaune intense après pulvérisation d'$AlCl_3$.

APPLICATION au CASSIA MIMOSOIDES L. (tiges)

1) MATÉRIEL :

Tiges prélevées dans les lots de folioles précités.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

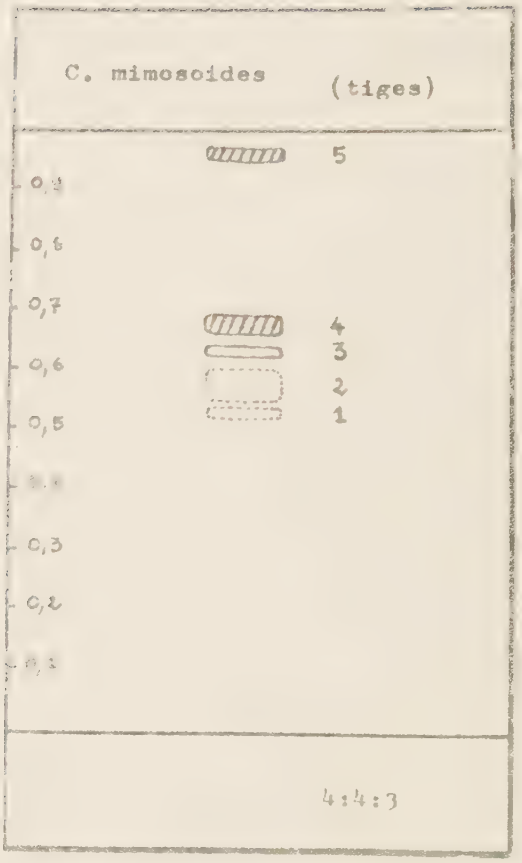


Fig. 20

Tableau XXIV

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
5	95-97	orangé	rose-violet	orangé
4	66-69	orangé	rose-violet	orangé
3	62-64	jaune clair	jaune	jaune
2	55-60	brun	jaune	jaune
1	52-54	gris bleu	/	/

La C.C.M. n'indique pas une grande richesse de constituants puisque seules trois taches importantes sont décelables : les taches n° 4 et n° 5 sont de nature anthraquinonique alors que la tache n° 3 est flavonoïdique (réaction de SHINODA rose intense).

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

A part l'absence d'émodol, les génines anthraquinoniques des tiges sont identiques à celles des folioles.

4) ÉTUDE DU CONSTITUANT n° 4 :

L'hydrolyse de ce constituant libère du chrysophanol et du physcion. Les R_F du composant hétérosidique initial en C.C.M. dans le (4:4:3) et dans le solvant : acétate d'éthyle-méthanol-eau (100:16,5:13,5) sont respectivement de 0,66-0,69 et de 0,30-0,34. Ces R_F sont identiques à ceux du mélange de glucorhamnosides de chrysophanol et de physcion isolé des racines du C. occidentalis.

APPLICATION au CASSIA MIMOSOIDES L. (gousses)

Les gousses avec leurs graines, de couleur brun roux, ont été détachées des rameaux feuillés.

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

A la lumière UV, une seule tache de R_F 0,71-0,73 est visible. Sa fluorescence et sa couleur de révélation par KOH sont jaunes. Une autre tache frontale n'est visible qu'à la lumière du jour; sa couleur est brun foncé.

2) RÉSULTATS DE LA MÉTHODE DICHOTOMIQUE :

Cette méthode ne met en évidence aucune anthraquinone libre ni hétérosidique. Mais on peut observer dans le (4:1) une quantité appréciable de physcion et des traces de chrysophanol après coupure oxydative des génines par $FeCl_3$.

3) ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE :

Par addition d'une quantité suffisante d'HCl concentré à un décocté éthanolique de gousses, il se développe immédiatement une coloration violette très intense. D'autre part, en pulvérisant une chromatoplaque par l'éthanol chlorhydrique et en la plaçant 5 minutes à l'étuve à 100°C, la tache frontale brune du chromato-

gramme devient violet intense alors qu'apparaît une traînée rosée de R_F 0,80-0,95.

Afin de mieux caractériser cette substance chromogène, un décocté aqueux de gousses est épuisé à l'éther : on sépare ainsi une fraction éthérée A et une fraction aqueuse B.

Par addition d'HCl concentré à la fraction A, on obtient une coloration violette intense de la couche acide. Le chromogène est donc soluble dans l'éther. Cette coloration violette vire au rouge intense stable au bout de 10 à 15 minutes.

Le spectre de la solution chlorhydrique violette additionnée d'éthanol donne les résultats suivants :

λ max. : 577 nm, 448 nm, 281 nm.

λ min. : 251 nm.

L'addition d'HCl concentré à la fraction B ne conduit à aucune coloration à froid. Par contre, une coloration rouge intense se développe après deux minutes au BM. Cette matière colorante est extractible par le n-pentanol. Le spectre UV présente les maximums suivants : λmax. : 480 nm, 322 nm, 272 nm.

*

* *

Conclusions

Les feuilles et les tiges du C. mimosoides renferment du chrysophanol et du physcion à l'état libre et hétérosidique. L'utilisation de ces organes comme purgatif semble donc justifiée.

Les gousses ne renferment que des traces de dérivés anthracéniques; par contre, deux substances génératrices de pigments sous l'influence de HCl, sont présentes en quantité importante. Celle qui engendre à chaud une coloration rouge extractible par le n-pentanol est certainement une leucoanthocyanne.

Chapitre XII.- APPLICATION au CASSIA TORA L. (folioles)

Arbrisseau des bords de chemins et des jachères, le C. tora est répandu dans les régions tropicales et subtropicales [37], [59].

E. MAURIN [2] estima à 0,60 % la teneur des racines en dérivés anthraquinoniques et à 0,70 % celle des fruits. D'après une note parue au siècle dernier, les graines contiendraient du chrysophanol et un glucoside d'émodol [69]. Dans l'échantillon examiné par P. DUQUÉNOIS [3], les tiges et les feuilles ne contenaient pas de dérivés anthracéniques. Ce dernier point est confirmé par B. ÇUBUKÇU [21].

Les feuilles du C. tora, d'odeur désagréable lorsqu'elles sont froissées, peuvent être consommées jeunes alors que plus âgées elles seraient purgatives (cette utilisation est d'ailleurs en contradiction avec les résultats des dosages), voire stupéfiantes pour la pêche; mais leur application majeure reste la dermatologie. En 1950, G. FUKUCHI et K. IMAI en isolèrent du kaempférol-diglucoside [70]. Les racines sont considérées comme purgatives. Quant aux graines, grillées, elles constituent un succédané du café.

*

* *

1) MATÉRIEL :

- Plantes récoltées par le Professeur P. JAEGER dans un champ de mil à Fodibougou (Kita) en octobre 1943 et dans les environs de Fodibougou en septembre 1951.
- Planche d'herbier prélevée à Dakar (Sénégal) en 1966.

2) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

Les chromatogrammes semblent indiquer une grande richesse en flavonoïdes mais aucun dérivé anthracénique n'est visible.

Fig. 21

Tableau XXV

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
8	82-84	jaune clair	/	vert clair
7	70-80	brun	jaune intense	brun-jaune
6	61-67	jaune clair	jaune clair	brun-jaune
5	58-60	brun	jaune intense	jaune intense
4	54-57	brun-rouge	brun	brun-jaune
3	48-50	brun clair	/	/
2	30-33	jaune-vert	brun clair	jaune clair
1	20-22	bleu ciel	/	/

3) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

Cette analyse, plus sensible, ne révèle pas la moindre trace d'anthraquinone.

Le constituant n° 5 est vraisemblablement le kaempférol-diglucoside déjà découvert. Le composant n° 8 présente les mêmes R_F que le kaempférol témoin : R_F 0,83 en C.S.P. dans le (4:1:5); R_F 0,55 dans le Forestal.

APPLICATION au CASSIA TORA L. (racines)

Un lot de C. tora nous a été offert par un importateur d'Amsterdam.

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ

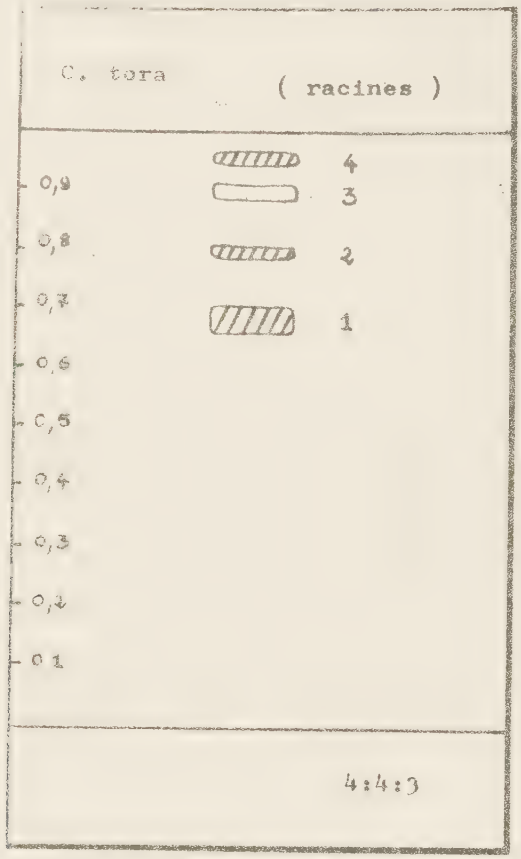


Fig. 22

Tableau XXVI

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH
4	94-96	rouge-orangé	rouge-violet
3	87-91	jaune	jaune
2	78-80	orangé	rosé
1	65-70	orangé	rouge-violet

D'après l'intensité des taches, ces racines, pauvres en flavonoïdes sont au contraire très riches en anthraquinones.

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : génines libres : chrysophanol, physcion, émodol.
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : chrysophanol, physcion, émodol.

*

* *

Conclusions

Alors que les folioles du C. tora sont riches en flavonoïdes (kaempférol notamment) et que les dérivés anthracéniques en sont absents, les racines au contraire renferment du chrysophanol, du physcion, de l'émodol ainsi que leurs hétérosides en quantité assez abondante. Il est ainsi aisé de comprendre l'usage dermatologique des folioles et l'emploi des racines comme purgatif.

Chapitre XIII.- APPLICATION au CASSIA FISTULA L. (folioles)

Le Canéficier est un arbre à grappes de fleurs jaunes pendantes, originaire d'Asie et répandu de nos jours dans presque toutes les régions tropicales. Tantôt cultivé, tantôt échappé des cultures en Afrique (Rhodésie notamment), on le retrouve en Amérique (Guatémala et Antilles) ainsi qu'aux Philippines.

Très anciennement connu aux Indes pour ses propriétés purgatives, ses gousses, constituant la "Casse", sont estimées dans ces pays. On les y considère bien plus actives avant maturité [37].

La nature chimique des constituants anthraquinoniques des divers organes du C. fistula a été très étudiée.

- En 1952, F.K. MODI et M.L. KHORANA [71] isolèrent la rhéine à partir de la casse. En 1960, M. DURAND et R. PARIS [72] la mirent en évidence par C.S.P. et la dosèrent ainsi que les hétérosides présents. Le dosage colorimétrique a été repris par G.J. KAPADIA et M.L. KHORANA [73]. En 1965 le rhéine-glucoside fut caractérisé dans les gousses par N.N. KAJI, M.L. KHORANA et M.M. SANGHAVI [74]. Notons aussi que des dosages biologiques des gousses ont été effectués sur des souris comparativement à l'activité des gousses du C. angustifolia par M.A. IYENGAR, G.S. PENDSE et N. NARAYANA [75].
- En ce qui concerne les folioles, N.N. KAJI et M.L. KHORANA [76] y découvrirent les sennosides A et B.

*

* *

Disposant d'un lot de folioles offert par un importateur hollandais, nous avons tenté de déceler d'autres constituants éventuellement présents.

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

Deux taches importantes de R_F 0,36-0,40 et 0,49-0,51, à fluorescence orangée et colorées en rouge-violet sont visibles après

révélation potassique. Deux autres taches plus faibles apparaissent à R_F 0,08-0,10 et 0,18-0,21. Leur fluorescence est rouge sombre, leurs couleurs jaune après KOH et brun-pourpre après pulvérisation de HNO_3 puis de KOH indiquent qu'il s'agit de formes anthrones.

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : génines libres : rhéine.
- Fractions 2 et 4 : génines hétérosidiques : sennidines A et B, rhéine.
- Fraction 5 : rhéine.

3) ÉTUDE DES DIVERS CONSTITUANTS :

L'étude des bandes de gel correspondant aux diverses taches donne les résultats suivants :

- Composants de R_F 0,08-0,10 et 0,18-0,21 :
  ils possèdent les mêmes caractères (R_F, révélations) que les sennosides témoins. Par hydrolyse chlorhydrique, ils libèrent les sennidines B et A et par hydrolyse oxydante de la rhéine. Ce sont donc les sennosides B et A.
- Composant de R_F 0,36-0,40 :
  il donne naissance après hydrolyse acide à la rhéine et au glucose. Son R_F et ses autres caractères sont ceux du rhéine-glucoside.
- Composant de R_F 0,49-0,51 :
  il est identifié à la rhéine.

*
* *

Conclusion

Les folioles du C. fistula renferment, outre les sennosides A et B déjà signalés, de la rhéine et du rhéine-glucoside. La composition chimique qualitative est très semblable à celle du C. podocarpa, ce qui confirme les usages empiriques de cette drogue.

Chapitre XIV.- APPLICATION au CASSIA MOSCHATA H.B. et K. (gousses)

Le C. moschata (C. leiandra Benth.) est un arbre d'Amérique du Sud principalement réparti en Bolivie dans la région de Magdalena, le long du fleuve Orénoque au Vénézuela et au Brésil. Ses gousses, connues en Nouvelle Grenade sous le nom de Cañafistola de purgar, ressemblent à celles de C. fistula mais sont plus étroites et moins longues. La pulpe douce, astringente, d'un brun très foncé, renferme des tanins [77].

Disposant à la collection de Matière médicale de gousses de C. moschata, identifiées par D. HANBURY en 1863, nous avons voulu voir si l'on pouvait retrouver après un siècle les principes anthracéniques qui doivent être présents dans les fruits frais utilisés dans leurs pays d'origine comme purgatif.

Des cloisons transversales divisent la gousse en de nombreuses loges renfermant une graine dure et lisse. Ces cloisons recouvertes de pulpe sèche noire, sont épuisées par l'alcool dilué au BM pendant 15 minutes.

*

* *

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) DE L'EXTRAIT ALCOOLIQUE :

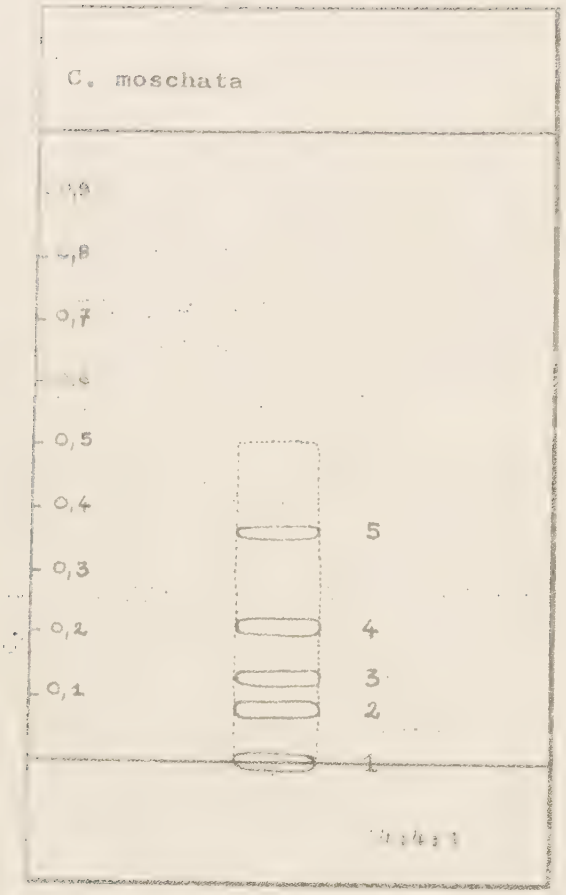


Fig. 23

Tableau XXVII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH
5	35-37	brun clair	brun clair
4	20-22	brun clair	brun clair
3	12-14	bleu ciel	/
2	8-10	brun clair	brun clair
1	0	brun foncé	brun foncé

L'examen en fluorescence UV d'une chromatoplaque montre une traînée brun clair continue du point d'application à R_F 0,50 sur laquelle sont réparties des taches brunes et bleues. Après révélation nitro-potassique, seules des taches brunes sont visibles.

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : génine libre : une seule tache non anthracénique de fluorescence jaune clair et de R_F nul dans le (4:1).
- Fraction 2 : génine hétérosidique : une tache de R_F 0,34-0,37 dans le (4:1) et de R_F 0,48-0,50 dans le (4:4:3) identique à la rhéine témoin.
- Fractions 3 et 5 : elles renferment la rhéine.

*

* *

Conclusion

Après un siècle de conservation, nous ne trouvons pas de rhéine libre dans la pulpe des gousses du C. moschata. Par contre, nous la détectons après hydrolyse : elle existe donc sous forme hétérosidique. Ceci confirme ses propriétés purgatives.

Il est curieux de constater que les R_F des taches brunes n° 2, n° 4 et n° 5 sont identiques à ceux des sennosides B, A et du rhéine-glucoside. Comme ces composés ont été identifiés dans le C. fistula, on peut présumer qu'ils existent aussi dans le C. moschata puisque la série rhéinique y est aussi présente. Cette hypothèse nécessite une vérification. Nous ne l'avons pas faite par manque de matériel frais.

Chapitre XV

Quelques petits échantillons de divers Cassia nous ont été aimablement adressés en 1966 par le Directeur du jardin botanique de Tarento (Italie). Ne disposant par espèce que d'un rameau comportant une douzaine de folioles environ, nous avons simplement appliqué la méthode dichotomique pour identifier les dérivés anthracéniques éventuellement présents.

*

* *

1. APPLICATION au CASSIA MEXICANA Jacq (folioles)

Cette espèce d'Amérique tropicale est surtout signalée au Mexique dans la région de la Vera Cruz. Nous n'avons rencontré aucune allusion dans la littérature quant à sa composition chimique et à ses usages.

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

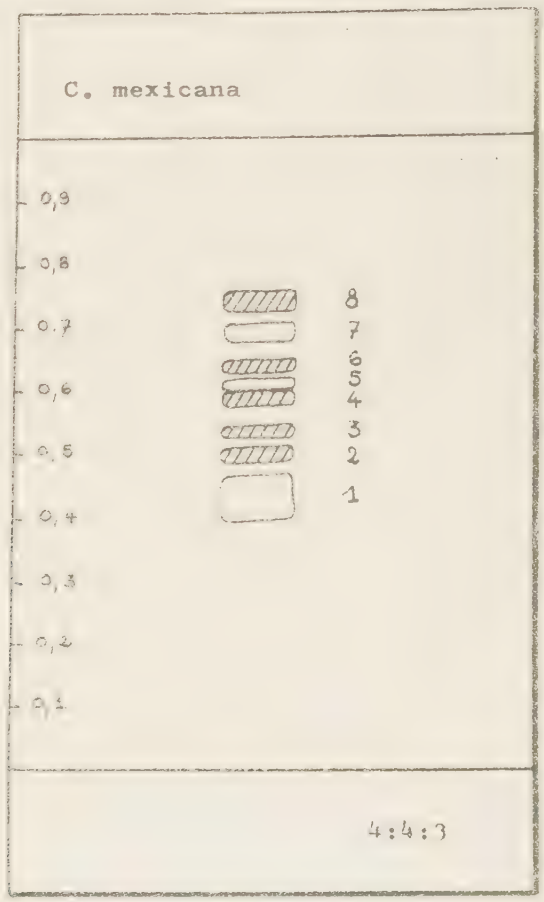


Fig. 24

Tableau XXVIII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
8	73-76	orangé	rose-violet	orangé
7	68-71	brun-jaune	jaune	jaune vif
6	63-65	orangé	rose-violet	orangé
5	60-62	brun-jaune	jaune	jaune vif
4	57-60	orangé intense	violet intense	orangé
3	53-55	orangé faible	rosé	orangé
2	49-51	orangé	rose-violet	orangé
1	40-47	brun clair	jaune-brun	jaune-brun

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : absence de génine libre.
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : émodol, traces de physcion.

Toutes les génines sont à l'état d'anthraquinones.

Conclusion

L'image chromatographique dans le (4:4:3) montre que les folioles du C. mexicana sont très riches en dérivés anthracéniques puisque les taches n° 2, n° 3, n° 4, n° 6 et n° 8 sont anthraquinoniques. Ce sont principalement des hétérosides d'émodol. Le constituant n° 6 a même R_F qu'un glucorhamnoside d'émodol identifié dans le C. marylandica. Les taches n° 5 et n° 7 sont flavonoïdiques.

Cette espèce mexicaine nous paraît utilisable et ses propriétés purgatives doivent être étudiées.

2. APPLICATION au CASSIA DIDYMOBOTRYA Fres. (folioles)

Ornemental par ses belles grappes de fleurs jaunes, c'est un arbuste des savanes herbeuses répandu en Afrique tropicale, en Abyssinie, aux Canaries et en Australie. En dehors de ses graines

utilisées comme stupéfiant pour la pêche [37], nous n'avons pas trouvé mention d'usages thérapeutiques.

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

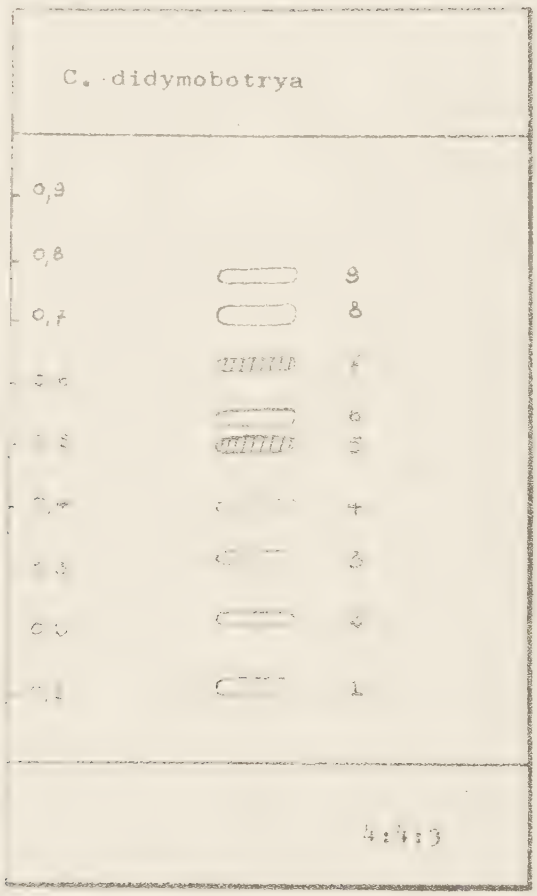


Fig. 25

Tableau XXIX

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
9	76-78	jaune	/	jaune-vert
8	70-73	brun-violine	jaune	jaune intense
7	63-65	rouge-orangé	rouge-violet	orangé
6	54-57	brun	jaune	jaune intense
5	50-52	orangé	rosé	orangé
4	50-42	jaune	jaune	bleu
3	32-34	jaune	jaune	bleu
2	22-24	jaune	jaune	bleu
1	12-14	jaune	jaune	bleu

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : pas de génine libre.
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : émodol, traces de physcion.

Les génines sont à l'état d'hétérosides anthraquinoniques.

3) ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE :

L'hydrolyse directe de la substance n° 7, adsorbée sur le gel de silice, libère de l'émodol. Remarquons aussi que l'hétéroside d'émodol n° 7 possède le même R_F que le glucorhamnoside d'émodol identifié dans le C. marylandica.

Le constituant n° 5 est un hétéroside de physcion.

Conclusion

Le C. didymobotrya renferme de nombreux flavonoïdes, des traces d'un hétéroside de physcion et vraisemblablement un glucorhamnoside d'émodol en quantité notable.

3. APPLICATION au CASSIA LATOPETIOLATA Domb (folioles)

Répartie surtout en Amérique tropicale (Andes du Pérou, Bolivie), cette espèce n'est pas connue dans la littérature chi-

mique et pharmacologique.

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

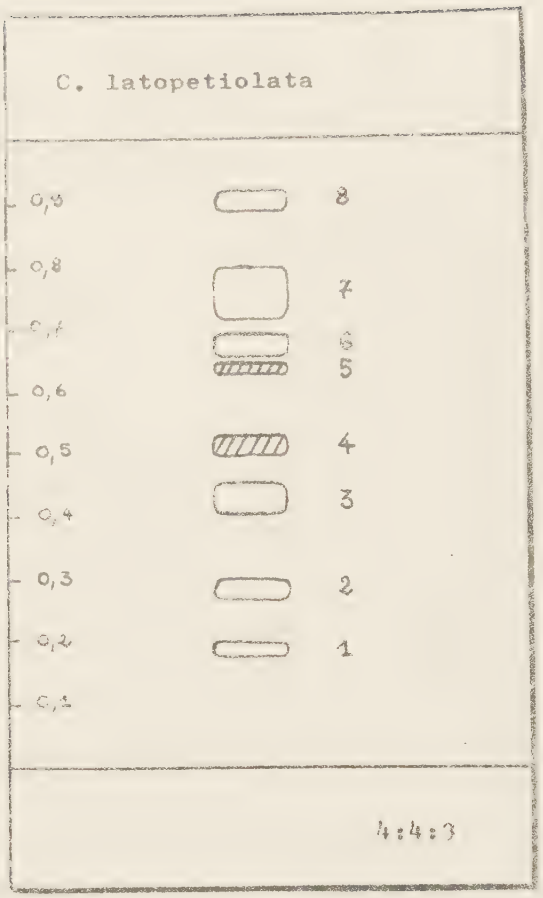


Fig. 26

Tableau XXX

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
8	89-93	jaune-gris	/	jaune-vert
7	71-80	jaune	jaune	jaune-vert vif
6	66-69	jaune-vert	jaune	jaune vif
5	63-65	rouge-orangé	rouge-violet	orangé
4	50-53	orangé	rouge-violet	orangé
3	40-45	jaune	jaune	jaune
2	27-30	jaune-brun	jaune	jaune-vert
1	18-20	jaune-brun	jaune-brun	jaune-brun

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : pas de génine libre.
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : émodol, physcion, en quantité un peu inférieure semble-t-il.

Ces deux génines sont à l'état d'hétérosides anthraquinoniques.

3) L'hydrolyse des substances n° 4 et n° 5 conduit respectivement au physcion et à l'émodol.

Conclusion

Le Cassia latopetiolata renferme un hétéroside d'émodol (R_F 0,63-0,65 et vraisemblablement un glucorhamnoside) et un hétéroside de physcion (R_F 0,50-0,53) ainsi que plusieurs flavonoïdes (flavonols notamment). La teneur en dérivés anthraquinoniques semblant assez importante, nous ne savons toutefois pas si cette espèce est utilisée par les natifs d'Amérique tropicale.

4. APPLICATION au CASSIA LAEVIGATA Willd. (folioles)

Le Cassia laevigata Willd. (C. tropica Vell.) est un arbrisseau présumé originaire d'Amérique : on le rencontre dans les lieux cultivés d'Amérique centrale (Mexique) et tropicale (Brésil, Guyane, Colombie) [78]. Introduit en Afrique et en Australie, il est utilisé comme plante de couverture pour établir des haies et fixer les terres. C'est un cosmopolite tropical qui serait utilisé comme le Séné.

La teneur en dérivés anthraquinoniques de ses fruits a été évaluée colorimétriquement par E. MAURIN [2] et P. DUQUÉNOIS [3] en reprit l'étude en 1959. D'après cet auteur, les tiges, les feuilles et les fruits ne renferment pas d'anthraquinones libres quatre mois après la récolte, mais de 0,12 à 0,47 % d'antranols. Les osides dominent, surtout dans la feuille (1,9 %).

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

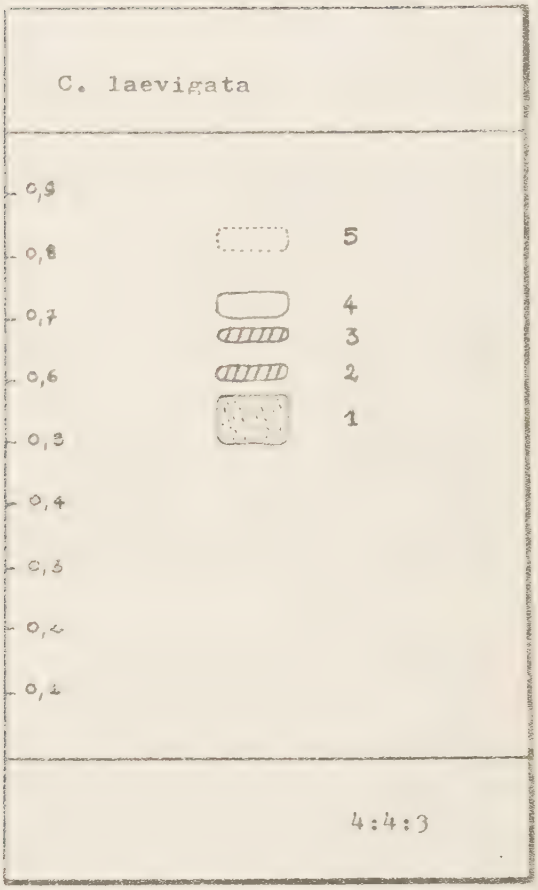


Fig. 27

Tableau XXXI

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH
5	81-85	orangé faible	rosé
4	70-75	jaune-vert	jaune
3	67-69	orangé intense	rouge-violet intense
2	61-63	orangé	rouge-violet
1	50-57	rouge vif	jaune

Les folioles du C. laevigata sont assez riches en dérivés anthraquinoniques puisque l'on peut mettre en évidence après révélation potassique trois hétérosides anthraquinoniques (n° 2, n° 3, n° 5).

La C.C.M. ne présente pas d'anthraquinone libre au front; il est probable que notre échantillon avait subi les mêmes conditions de séchage que celui analysé par P. DUQUÉNOIS.

Après révélation nitro-potassique, la tache n° 1 se colore en brun-pourpre indiquant que cette substance est de nature anthronique.

La tache n° 4 est constituée par un flavonoïde.

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : absence de génine libre.
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : émodol, émodol-anthrone; traces de chrysophanol et de physcion.
- Fraction 3 : génines oxydées : émodol, traces de chrysophanol et de physcion.

3) ÉTUDE COMPLÉMENTAIRE :

Le gel, correspondant aux divers taches de la C.C.M. développée dans le (4:4:3), est soumis à l'hydrolyse directe au BM par HCl à 25 %. Après 30 minutes, les génines libérées sont extraites à l'éther et chromatographiées dans le (4:1). On obtient ainsi :

- émodol et émodol-anthrone pour la tache n° 1.
- émodol et des traces de chrysophanol et de physcion pour la tache n° 2.
- émodol pour les taches n° 3 et n° 4.

Conclusion

Les folioles du C. laevigata, riches en dérivés anthracéniniques, renferment :

- un hétéroside d'émodol-anthrone (tache n° 1).
- un hétéroside d'émodol accompagné de traces d'hétérosides de chrysophanol et de physcion (tache n° 2). Il pourrait s'agir d'un glucorhamnoside d'émodol qu'accompagnent des traces de chrysophanol et de physcion glucosides déjà rencontrés dans le C. marylandica.
- deux hétérosides d'émodol (taches n° 3 et n° 5).

La composition chimique confirme les usages comme purgatif.

5. APPLICATION au CASSIA SOPHERA L. (folioles)

Le Cassia sophera (C. lanceolata Forsk.) est surtout cultivé dans les régions tropicales d'Asie, d'Afrique et d'Australie, plus rarement en Amérique. C'est une espèce buissonnante à considérer comme variété du C. occidentalis qui est annuel [59]. Ses folioles, très utilisées dans les maladies de la peau, sont appréciées en Inde et en Océanie, notamment à Guam. Elles seraient même consommées jeunes comme légumes alors que plus âgées l'apparition de chrysophanol et d'émodol [37] les rendrait purgatives. La teneur des fruits en dérivés anthraquinoniques a été évaluée colorimétriquement par E. MAURIN [2].

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

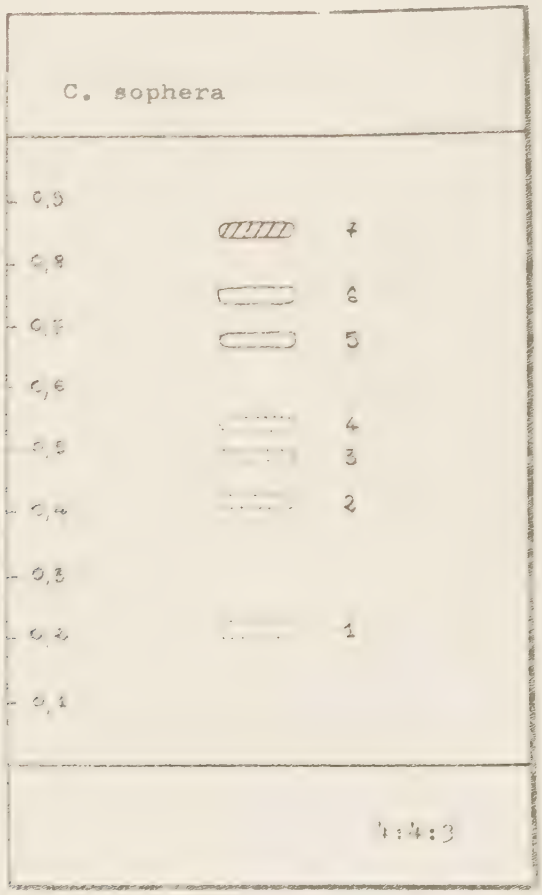


Fig. 28

Tableau XXXII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
7	84-86	orangé	rouge-violet	orangé
6	73-76	brun	jaune	jaune
5	66-69	brun	jaune	jaune
4	53-55	beige clair	/	/
3	48-50	beige clair		
2	40-43	beige clair		
1	20-22	beige clair		

D'après l'examen du chromatogramme, nous avons été surpris de constater que cette espèce citée dans la littérature n'avait pas une composition chimique très riche, comparativement à d'autres espèces moins bien connues telles que le C. mexicana par exemple. La C.C.M. présente trois taches importantes visibles, dont une seule possède avec certitude les caractères anthraquinoniques. Aucune tache n'est anthronique.

2) RÉSULTATS DE LA METHODE DICHOTOMIQUE :

- Fraction 1 : absence de génine libre.
- Fraction 2 : génines hétérosidiques : émodol, physcion.

La tache n° 7 correspond à un mélange d'hétérosides d'émodol et de physcion.

Conclusion

Les folioles du C. sophera ne sont pas très riches en dérivés anthraquinoniques. Elles ne renferment qu'un mélange de deux hétérosides d'émodol et de physcion. Elles contiennent par contre de nombreux flavonoïdes.

Notre échantillon de folioles de C. sophera se distingue cependant de celles des échantillons de C. occidentalis, notamment par la présence d'hétérosides anthraquinoniques.

6. APPLICATION au CASSIA CORYMBOSA Lam. (folioles)

Le C. corymbosa est une espèce d'Amérique tropicale principalement répartie dans le sud du Brésil (région de Buenos Aires) et en Bolivie. E. MAURIN [2] signale que ses folioles et ses tiges ne renferment aucun composé anthraquinonique.

1) C.C.M. DANS LE (4:4:3) D'UN DÉCOCTÉ :

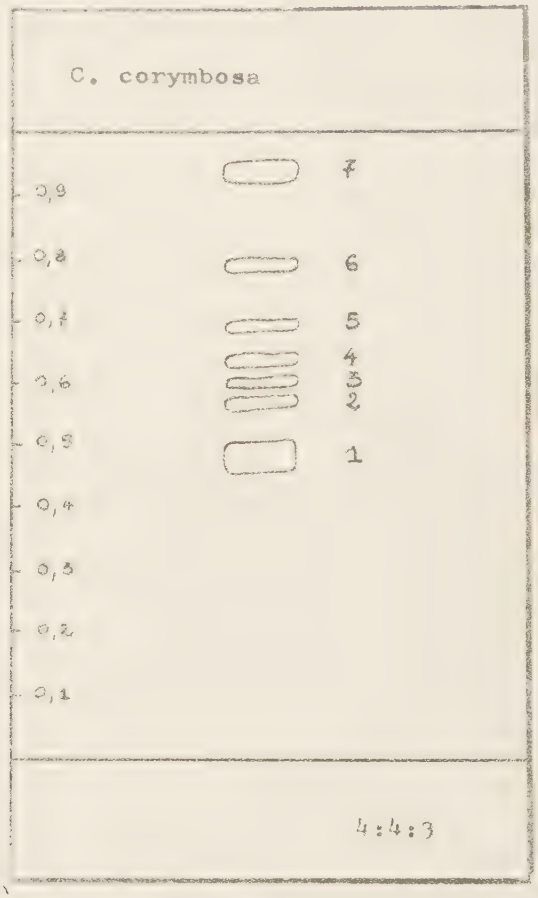


Fig. 29

Tableau XXXIII

n°	R_F x 100	Fluorescence UV 366 nm	Couleur après KOH	Fluorescence UV après $AlCl_3$
7	93-96	/	jaune	bleu intense
6	78-80	brun-violine	jaune vif	jaune
5	68-70	brun-violine	jaune	jaune
4	63-65	jaune	/	bleu intense
3	59-61	brun-violine	jaune vif	jaune
2	56-58	bleu	/	bleu intense
1	46-51	jaune	jaune	jaune

2) RÉSULTATS DE L'ANALYSE DICHOTOMIQUE :

Malgré la finesse d'analyse qu'offre la C.C.M. nos résultats sont en accord avec ceux de E. MAURIN : aucun dérivé anthracénique ne peut être décelé.

Conclusion

Les folioles du C. corymbosa analysé, riches en flavonoïdes, ne renferment par contre aucun dérivé anthracénique et ne présentent vraisemblablement pas d'intérêt comme purgatif.

*

* *

Conclusions

Tous ces échantillons, récoltés au Jardin Botanique de Taronto (Italie) peu de temps avant d'être stabilisés par la chaleur, sont exempts d'anthraquinones libres alors que la plupart des Cassia étudiés, en provenance du commerce ou d'herbiers en contiennent.

Les hétérosides anthraquinoniques trouvés dans ces échantillons qui sont répartis au hasard dans la systématique, n'appartiennent pas à la série rhéinique.

Le sondage que constitue l'étude sommaire des espèces réunies dans ce chapitre tend à montrer que la série rhéinique est peu représentée dans le genre Cassia.

QUATRIEME PARTIE

1) Discussion chimio-taxinomique à partir de la classification de G. BENTHAM.

2) Hypothèse de biosynthèse des dérivés anthracéniques dans le genre Cassia.

Chapitre I.- DISCUSSION CHIMIO-TAXINOMIQUE À PARTIR DE LA CLASSIFICATION DE G. BENTHAM

Les Léguminosales, caractérisées généralement par un legumen, c'est-à-dire un fruit en forme de gousse, constituent l'un des ordres les plus importants de la systématique botanique (8 000 espèces, 450 genres). Une division en trois familles : Mimosacées, Césalpiniacées, Papilionacées, a été établie d'après la morphologie de la fleur.

Les Césalpiniacées, auxquelles appartient le genre Cassia, ont été divisées artificiellement par G. BENTHAM [79] en huit tribus :

Cadiées, Eucaesalpiniées, Sclérolobiées, Amherstiées, Bauhiniées, Cassiées, Copaiférées, Dimorphandrées.

Neuf sections, formant trois sous-genres, constituent selon lui la tribu des Cassiées.

Ce travail fondamental, Revision of the Genus Cassia publié par G. BENTHAM, où la morphologie de la fleur et du fruit joue un rôle prépondérant, a été adopté dans les grands ouvrages de systématique comme ceux de A. ENGLER et K. PRANTL [80]. Toutefois, les systématiciens modernes estiment que des améliorations de détail peuvent y être apportées. Nous ne pouvons mieux faire que de citer l'opinion de R.L. STEYAERT (communication privée du 19 décembre 1967) :

"Ce sont encore les idées de G. BENTHAM qui prévalent pour ce "qui concerne la systématique des Cassia. Il est incontestable que "la systématique élaborée par cet auteur méritait, à l'époque de "sa parution, les plus vifs éloges. Le fait qu'elle a résisté à "près d'un siècle d'investigations botaniques prouve que ses mé-"rites sont sérieux.

"Toutefois celui qui étudie les Cassia en détail ne peut "qu'être surpris de constater d'aussi grandes variations de grou-"pes à groupes d'espèces. Il est compréhensible aussi qu'un doute "puisse surgir quant à la parfaite exactitude des vues de ce mono-

"graphe. Il n'est donc pas étonnant qu'antérieurement à cet au-
"teur les Cassia étaient répartis sur de nombreux genres que
"G. BENTHAM réduisit au statut de sous-genres.

"Le contre-pied de cette attitude centripète est celle prise
"par la North American Flora où les Cassia sont pulvérisés sur
"près de trente genres. Je me récuse de porter jugement sur la
"valeur de ces genres car je ne me suis que trop peu occupé de la
"flore du Nouveau Monde. Cependant en connaissance de cause des
"flores africaine et asiatique des Cassia, un morcellement du
"genre Cassia bénéficie chez moi d'un préjugé favorable. A mon
"sens il serait justifié de réinstaurer le genre Chamaecrista
"(C. mimosoides et espèces affines). Un autre genre bien caracté-
"risé est le sous-genre Fistula (syn. Cassia sensu stricto) (C. fis-
"tula, C. mannii, C. grandis, C. abbreviata, C. sieberiana, C. an-
"golensis)".

Dans une communication privée (lettre du 2 janvier 1968), J.P.M. BRENAN exprimait en outre l'idée qu'une nouvelle conception du genre Cassia devrait peut-être se fonder davantage sur l'étude des espèces sud-américaines qui forment la majorité des espèces de ce genre, vraisemblablement originaire du nouveau continent :

"By far the greatest number and diversity are in tropical
"America and I feel that any real revision of the genus must be
"based primarily on study of the American species".

Tableau XXXIV

Sous - genre	Section	E s p è c e	sans dérivé anthracénique	avec anthracéniques	
				et au moins un - COOH	sans aucun - COOH
I. Fistula	1. Fistula	C. fistula L. C. moschata H.B. et K. C. sieberiana D.C.		+ + +	
II. Senna	2. Chamaefistula	C. corymbosa Lam. C. laevigata Willd. C. spectabilis D.C. C. mexicana Jacq.	+		 + + +
	3. Oncolobium	C. occidentalis L. C. sophera L. C. marylandica L.			+ + +
	4. Prososperma	C. tora L.			+
	5. Chamaesenna	C. latopetiolata Domb. C. siamea Lam. C. alata L. C. didymobotrya Fresen. C. podocarpa Guill.et Perr. C. oborata Coll. C. acutifolia Del. C. angustifolia Vahl.		 + + + + +	+ + +
	6. Psilorhegma				
III. Lasiorhegma	7. Apouconita				
	8. Absus	C. punctata Vog.	+		
	9. Chamaecrista	C. nigricans Vahl C. mimosoides L.			+ +

Dans le Tableau précédent, les espèces de Cassia sont disposées selon la classification de G. BENTAM. Nous y avons indiqué la place des sections 6 et 7 quoique nous n'ayons étudié aucun échantillon les concernant. Nos résultats sont schématisés dans les trois dernières colonnes, en distinguant trois catégories d'espèces :

1) celles dont les organes examinés ne révèlent aucun dérivé anthracénique,
2) celles qui renferment des dérivés anthracéniques avec au moins un constituant à groupe carboxylique,
3) celles qui contiennent des dérivés anthracéniques sans aucun constituant à groupe carboxylique.

Le choix de ces critères n'a pas été fortuit. Nous avons constaté en effet que pour une espèce donnée, nous retrouvions toujours dans les divers organes de la plante des hétérosides d'une même génine ou d'un certain groupe de génines. Cette unité de composition chimique permet de dissocier deux groupes de constituants anthracéniques :

- le groupe 1 renferme : chrysophanol, aloeémodol, rhéine (avec présence des trois génines ou de la rhéine seule).
- le groupe 2 contient : chrysophanol, émodol, physcion (avec présence des trois génines, ou de deux quelconques d'entre elles, ou de l'une ou l'autre de ces deux dernières).

En effet, dans le groupe 1, le chrysophanol et l'aloeémodol sont toujours accompagnés de rhéine. Par contre, la rhéine existe souvent seule. Par exemple, le C. fistula, qui possède des dérivés de la rhéine, fait partie du groupe 1 et dans l'avant-dernière colonne du Tableau, cette espèce est affectée du signe +.

Dans le groupe 2, le chrysophanol est toujours accompagné soit d'émodol, soit de physcion, soit des deux à la fois. Nous avons aussi des exemples où seul l'émodol existe. C'est le cas du C. mexicana. Pour le C. marylandica des traces de chrysophanol et de physcion accompagnent l'émodol; cette espèce fait partie du groupe affecté du signe + dans la dernière colonne du Tableau.

Ajoutons quelques remarques particulières : il ne faut pas

perdre de vue que l'analyse des folioles d'une espèce n'est pas suffisante pour savoir si cette espèce contient ou non des dérivés anthracéniques. Les folioles du C. tora et du C. occidentalis ne renferment pratiquement pas de dérivés anthracéniques. Par contre, leurs racines et leurs fruits en contiennent beaucoup. C'est dire que si des dérivés anthracéniques ne peuvent être mis en évidence dans les folioles d'une espèce, nous ne pouvons préjuger de la composition des autres organes. C'est le cas du C. corymbosa dont nous n'avons pu analyser que les folioles; nous ne pouvons affirmer si cette espèce est exempte de dérivés anthracéniques. Mais puisque les folioles et les gousses du C. punctata ne possèdent aucun dérivé anthracénique, il est vraisemblable que les autres organes en sont dépourvus et que par conséquent les dérivés anthracéniques sont absents dans ce Cassia.

Discussion du Tableau :

- Dans la section Fistula, les C. étudiés renferment tous des dérivés à fonction -COOH. Il semble que morphologiquement et chimiquement cette section soit très distincte des autres dans la classification et possède une unité cohérente (on pourrait même en faire un genre distinct).

- Dans les sections Chamaefistula, Oncolobium, Prososperma, la filiation chimique est différente et correspond au groupe 2 précédemment défini.

- Dans la section Chamaesenna, il y a des représentants des deux groupes 1 et 2. Les C. alata et didymobotrya devraient être inversés dans la classification, si l'on tient compte de leur nature chimique.

- Dans la section Absus, nous ne pouvons classer les Cassia puisque le C. punctata, seule espèce étudiée, paraît exempt de dérivés anthracéniques.

- Dans la section Chamaecrista, enfin, nous retrouvons la même unité du groupe 2.

Nous voyons donc que la classification systématique de G. BENTHAM est en relation très étroite avec la classification chimique.

Seule la section Chamaesenna semble offrir une difficulté puisqu'elle contient des espèces du groupe 1 et du groupe 2. Mais devons-nous nous en étonner puisque G. BENTHAM, à la page 538 de son mémoire écrivait : "... Chamaesenna as a whole is an artificial section...".

Si l'on en juge par les quelques espèces analysées, au hasard, dans la section Chamaesenna, on pourrait envisager de lui donner un rôle de transition en la plaçant entre la section 1 Fistula et la section 2 Chamaefistula, c'est-à-dire entre les espèces à dérivés carboxyliques et celles qui n'en renferment pas.

Enfin, il est intéressant de constater que l'incidence d'un tel regroupement serait aussi de nature pharmacologique, puisqu'il est certain que les Cassia à constituants carboxyliques sont plus estimés pour leur action purgative.

Chapitre II.- HYPOTHÈSE SUR LA BIOSYNTHÈSE DES DÉRIVÉS ANTHRACÉNIQUES DANS LE GENRE *CASSIA*

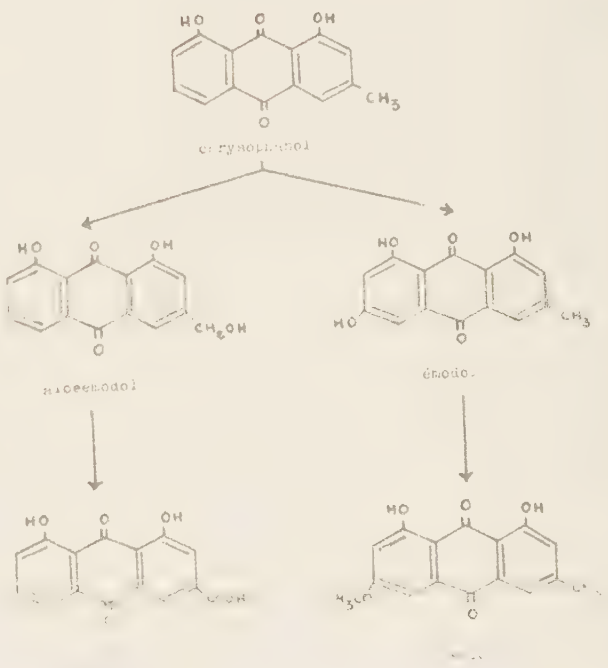
Le fait qu'il n'y ait jamais présence simultanée de rhéine ou d'aloeémodol d'une part et d'émodol ou de physcion d'autre part, nous a conduit à penser qu'il pourrait exister deux systèmes de biosynthèse bien distincts. Le chrysophanol, principe quasi commun à l'ensemble des Cassia, en constituerait la clef de voûte.

C'est ainsi que la biosynthèse des anthraquinones dans le genre *Cassia* pourrait être conçue par la cyclisation et la réduction d'une chaîne polyacétique conduisant au chrysophanol. De là, deux voies différentes s'offriraient :

- l'une oxydative menant à l'aloeémodol (une fonction $-CH_2OH$) puis à la rhéine (une fonction $-COOH$),
- l'autre après hydroxylation à l'émodol (une fonction $-OH$ en 6), dont le produit de méthylation est le physcion (une fonction $-OCH_3$ en 6).

La rhéine et le physcion apparaissent donc comme des produits ultimes (voir Tableau XXXV).

Tableau XXXV



Mais nous n'avons envisagé ici que le cas des anthraquinones seules. Le problème est vraisemblablement bien plus complexe et ces anthraquinones doivent être précédées, entre autres, à chacun des niveaux de leur formation par l'anthrone (ou la forme anthranol) correspondante. Des voies latérales de dimérisation aux stades de l'anthrone et de l'anthraquinone aboutiraient respectivement aux dianthrones et aux dianthra-

quinones. Ce mécanisme de condensation serait, comme nous l'avons vu, particulièrement actif dans les racines.

Bien entendu, cette proposition de biosynthèse des 1,8-dihydroxyanthraquinones n'est qu'une simple hypothèse de travail. Des études concernant la formation de ces pigments ont été entreprises à l'aide de radioéléments chez des micro-organismes [81], [82], [83], [84], [85], mais aucune sur des plantes supérieures. De telles expériences mériteraient d'être réalisées sur des Cassia, car il n'est pas exclu que d'autres voies métaboliques, comme celle que nous avons esquissée, pourraient être suivies.

C O N C L U S I O N S

Au cours de ce travail, nous avons modifié quelques techniques phytochimiques et analysé vingt-deux espèces de Cassia. A l'aide des résultats obtenus, nous avons dégagé des idées concernant la chimio-taxinomie et la biogénèse possible des dérivés anthracéniques dans le genre Cassia.

I. MÉTHODES UTILISÉES :

1) Le mélange solvant de la Pharmacopée européenne, proposé pour l'identification chromatographique des Sénés officinaux, possède un pouvoir de résolution excellent des hétérosides anthracéniques et flavonoïdiques.

2) Nous avons modifié la méthode d'analyse décrite à la Pharmacopée européenne afin de mieux préciser la nature des constituants sur les chromatogrammes.

3) Pour identifier les génines anthracéniques libres ou hétérosidiques, une technique dichotomique rapide a été élaborée et un solvant chromatographique (n-hexane-acide acétique 4:1) a été proposé.

4) En outre, d'autres méthodes analytiques (chromatographie préparative sur gel de silice...) ont été utilisées pour élucider la nature chimique des composants particulièrement importants.

L'impression qui se dégage des résultats obtenus en appliquant ces méthodes à divers Cassia, est la très grande diversité des constituants chimiques.

II. RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX :

Ils se situent au niveau de l'espèce et au niveau de l'organe :

1) au niveau de l'espèce :

- Nous avons rencontré les 1,8 dihydroxyanthraquinones sous de multiples états : oxydé ou réduit, monomère ou dimère. Ainsi

le chrysophanol, le physcion, la rhéine, l'aloeémodol et les anthrones correspondantes ont été mis en évidence, de même que les formes dimères symétriques (sennidines, aloeémodol-dianthrone, émodol-dianthrone, physcion-dianthrone). Des dianthrones asymétriques ont été également caractérisées et plus précisément la dianthrone de chrysophanol-physcion, trouvée pour la première fois dans le règne végétal.

- L'éventail de ces formes est encore plus varié si l'on considère les possibilités de conjugaison glucidique conduisant notamment aux glucosides, rhamnosides, glucorhamnosides..., dont la structure appelle encore des liaisons α ou β. Notons toutefois que les hétérosides anthracéniques décelés sont tous des O-hétérosides.

- Nous constatons la même diversité pour les flavonoïdes où flavones (apigénine, diosmétine...), flavonols (kaempférol, quercétol...), flavanones (5,7 hydroxylée...) sont représentés. Remarquons que les folioles des Cassia occidentalis et punctata renferment des C-flavonosides (dérivés de la vitexine).

- Enfin, des leucoanthocyannes et même des alcaloïdes y ont été décelés.

Cette multiplicité de molécules chimiques, d'une espèce à l'autre, détermine une image chromatographique spécifique de chaque Cassia.

2) au niveau de l'organe :

Ce qui est vrai pour l'espèce l'est aussi pour chaque organe d'une même espèce et l'image chromatographique est distinctive d'un organe à l'autre au sein de la même espèce.

Il arrive même que les dérivés anthracéniques, relativement abondants dans une même espèce, fassent défaut au niveau des folioles, et inversement pour les flavonoïdes.

D'une manière générale, les gousses, les graines et les quelques échantillons de fleurs analysées, renferment passablement d'anthraquinones alors que dans les racines, lieux

d'élection pour l'accumulation de réserves, apparaissent surtout des formes dimères.

III. DÉDUCTIONS THÉORIQUES :

1) Les divers organes d'une même espèce contiennent toujours un même groupe de génines anthracéniques.

2) Un fait constant est remarquable : la rhéine ou l'aloeémodol d'une part et l'émodol ou le physcion d'autre part ne sont jamais présents simultanément.

3) On peut classer les Cassia en deux groupes : l'un dont les constituants n'ont pas de molécule carboxylique, l'autre avec au moins une molécule carboxylique, c'est-à-dire émodol-physcion ou aloeémodol-rhéine. Cette répartition, confrontée avec la systématique de George BENTHAM, révèle un parallélisme assez étroit entre les classifications botanique et chimique.

4) Enfin, nous avons formulé une hypoyhèse originale sur la biogénèse des 1,8 dihydroxyanthraquinones dans le genre Cassia.

B I B L I O G R A P H I E

[1] BORNTRAGER (A.), Zeitschr. anal. Chem., 1880, 19, p. 165-166.

[2] MAURIN (E.), Bull. Sc. pharmacol., 1927, 34, p. 10-12.

[3] DUQUÊNOIS (P.), Bull. Acad. Méd., 1959, 143, p. 522-525.

[4] JANOT (M.-M.) et MOREL (A.), Ann. pharm. fr., 1944, 2, p.7-9.

[5] KUSSMAUL (W.) et BECKER (B.), Helv. chim. Acta, 1947, 30, p. 59-63.

[6] SHIBATA (S.), TAKITO (M.) et TANAKA (O.), J. amer. chem. Soc., 1950, 72, p. 2789-2790.

[7] BETTS (T.J.), FAIRBAIRN (J.W.) et MITAL (V.K.), J. Pharm. Pharmacol., 1958, 10, p. 436-441.

[8] CRELLIN (J.K.), FAIRBAIRN (J.W.), FRIEDMANN (C.A.) et RYAN (H.A.), J. Pharm. Pharmacol., 1961, 13, p. 639-640.

[9] FAIRBAIRN (J.W.), FRIEDMANN (C.A.) et RYAN (H.A.), J. Pharm. Pharmacol., 1958, 10, (Suppl^{t}), 186-192 T.

[10] FAIRBAIRN (J.W.) et MICHAELS (I.), J. Pharm. Pharmacol., 1950, 2, p. 807-812.

[11] DEQUEKER (R.), Boll. chim. farm., 1962, 101, p. 290-302.

[12] LEMLI (J.), Pharm. Tijdsch. Belg., 1963, 40, p. 149-154.

[13] LEMLI (J.), DEQUEKER (R.) et CUVEELE (J.), Pharm. Weekbl., 1964, 99, p. 589-592.

[14] CORREIA ALVES, Anais Fac. Farm. Porto, 1964, 24, p. 65-119.

[15] KRAUS (L.), Planta medica, 1959, 7, p. 427.

[16] LEMLI (J.) et CUVEELE (J.), Pharm. Acta Helv., 1965, 40, p. 667-670.

[17] STOLL (A.), KUSSMAUL (W.) et BECKER (B.), Ver. Schweiz. naturforsch. Ges., 1941, p. 235; Helv. chim. Acta, 1949, 32, p. 1892-1903.

[18] STAHL (E.), Dünnschicht Chromatographie, Springer Verlag, Berlin, 1967.

[19] STAHL (E.) et SCHORN (P.J.), Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem., 1961, 325, p. 263.

[20] HÖRHAMMER (L.), WAGNER (H.) et BITTNER (G.), Pharm. Ztg., 1963, 108, p. 259-262.

[21] ÇUBUKÇU (B.), Thèse Doct. Univ. (Pharm.), Paris, 1960.

[22] DURAND (M.) et PARIS (R.), Ann. pharm. fr., 1960, 18, p. 637-642 et 846-852.

[23] MASSE (J.) et PARIS (R.), Ann. pharm. fr., 1964, 22, p.349-360.

[24] MOËS (A.), J. Pharm. Belg., 1964, n° 3-4, p. 173-189.

[25] POETHKE (von W.), BEHRENDT (H.) et MATSCHKE (E.), Pharm. Zentralhalle, 1963, 102, p. 492-495.

[26] STOLL (A.), BECKER (B.) et HELFENSTEIN (A.), Helv. chim. Acta, 1950, 33, p. 313-325.

[27] LEMLI (J.), J. Pharm. Pharmacol., 1965, 17, p. 227-232.

[28] DIMROTH (O.), Ber. chem. Ges., 1901, 34, p. 219-223.

[29] MEYER (H.), Monatsh. f. Chem., 1909, 30, p. 165-177.

[30] SCHMID (W.) et ANGLIKER (J.), Helv. chim. Acta, 1965, 48, p. 1911-1921.

[31] LEMLI (J.) et CUVEELE (J.), Pharm. Acta Helv., 1967, 42, p. 37-40.

[32] FAIRBAIRN (J.W.) et SHRESTHA (A.B.), J. Pharm. Pharmacol., 1966, 18, p. 467-470.

[33] TUTIN (F.), J. chem. Soc., 1913, 103, p. 2006-2023.

[34] AUTERHOFF (H.) et SCHERFF (F.C.), Archiv Pharm., 1960, 293, p. 918-925.

[35] HIFNY SABER (A.), BALBAA (S.I.) et AWAD (A.T), Lloydia, 1962, 25, p. 238-240.

[36] STEINEGGER (E.) et HÄNSEL (R.), Lehrbuch der allgemeinen Pharmakognosie, Springer, Berlin, 1963, p. 197.

[37] DE WILDEMAN (É.), Inst. Royal col. Belge, A propos de médicaments antilépreux d'origine végétale, t. X, Bruxelles, 1948.

[38] CROSS (E.J.), PERKIN (A.G.), J. chem. Soc., 1930, p.292-307.

[39] PARIS (R.) et ÇUBUKÇU (B.), Ann. pharm. fr., 1962, 20, p.583-587.

[40] PARIS (R.) et CHARTIER (J.), Ann. pharm. fr., 1948, 6, p.30-35.

[41] VIGNOLI (L.) et BALANSARD (J.), Ann. Musée col. Marseille, 1940, 48, p. 17-20.

[42] TAYLOR-SMITH (R.), Bull. Inst. Afrique Noire, 1966, 28, p. 1320.

[43] PARIS (R.) et ETCHEPARE (S.), Ann. pharm. fr., 1967, 25, p. 343-346.

[44] SPADA (A.) et CAMERONI (R.), Atti Soc. dei Natur. e Matematici, Modena, 1956-1957, p. 87-88.

[45] HARBORNE (J.B.), J. Chromatog., 1959, 2, p. 581.

[46] SOSA-BOURDOUIL (C.) et SOSA (A.), Bull. Soc. Chim. biol., 1967, 49, p. 1593.

[47] COMER (J.P.), Anal. Chem., 1956, 28, p. 1748.

[48] PASTUSKA (G.), Z. analyt. Chem., 1961, 179, p. 427.

[49] MÜHLEMANN (H.) et WERNLI (H.), Pharm. Acta Helv., 1965, 10, p. 534-542.

[50] WAGNER (H.) et HÖRHAMMER (H.P.), Die Naturwissensch., 1966, 22, p. 1-2.

[51] GEISSMAN (T.A.), The Chemistry of Flavonoid Compounds, Pergamon Press, 1962.

[52] TECULE (R.), CHOPIN (J.) et MENTZER (C.), Bull. Soc. chim., 1960, p. 2116-2123.

[53] DALZIEL (J.M.) et HUTCHINSON (J.), Appendix to the flora of west tropical Afrika, London, 1937.

[54] PRISTA (N.), CORREIA ALVES (A.) et CORREIA DE ARAUJO (F.M.), Garcia de Orta, Lisboa, 1959, 7, p. 757-772.

[55] JURD (L.), GEISSMAN (T.A.) et SEIKEL (M.K.), Arch. Biochem. Biophys., 1957, 67, p. 284.

[56] GLOTZBACH (B.) et RIMPLER (H.), Planta medica, 1968, p. 1-7.

[57] PARIS (R.) et ETCHEPARE (S.), Ann. pharm. fr., 1968, 26, p. 51-53.

[58] PARIS (M.), Plantes méd. et Phytothérapie, 1968, 2, p. 32-44.

[59] STEYAERT (R.), Caesalp. Cassieae, extr. Flore du Congo Belge et du Ruanda-Urundi Spermatophytes, vol. III, Bruxelles, 1952.

[60] LEMLI (J.), DEQUEKER (R.) et CUVEELE (J.), Planta medica, 1964, 12, p. 107-111.

[61] HÖRHAMMER (L.), WAGNER (H.) et KHALIL (E.), Lloydia, 1966, 29, p. 225-229.

[62] LEMLI (J.) et CUVEELE (J.), Die Pharmazie, 1965, 20, p. 396.

[63] HECKEL (E.) et SCHLAGDENHAUFFEN (F.), Arch. Méd. navale, avril et mai 1887.

[64] TSCHIRCH (A.), Handbuch der Pharmakognosie, Leipzig, 1917, p. 1421.

[65] KING (N.M.), J. am. pharm. Assoc., 1957, 46, p. 271-272.

[66] CHATTERJEE (A.) et BHATTACHARJEE (S.R.), J. Ind. Chem. Soc., 1964, 41, p. 415-419.

[67] DUTTA (N.L.), GHOSH (A.C.), NAIR (P.M.) et VENKATARAMAN (K.), Tetrahedron letters, 1964, 39-40, p. 3023-3030.

[68] WEELS, Phil. J. Sci., 1919, 14, p. 1.

[69] ELBORNE (W.), J. Pharm. Chimie, 1888, 18, p. 453-454.

[70] FUKUCHI (G.) et IMAI (K.), J. Pharm. Soc. Japan., 1950, 70, p. 568.

[71] MODI (F.K.) et KHORANA (M.L.), Ind. J. Pharm., 1952, 14, p. 61-63.

[72] DURAND (M.) et PARIS (R.), Ann. pharm. fr., 1960, 18, p. 637-642.

[73] KAPADIA (G.J.) et KHORANA (M.L.), Lloydia, 1962, 25, p. 55-58.

[74] KAJI (N.N.), KHORANA (M.L.) et SANGHAVI (M.M.), Ind. J. Pharm., 1965, 27, p. 71-72.

[75] IYENGAR (M.A.), PENDSE (G.S.) et NARAYANA (N.), Planta medica, 1966, p. 289-301.

[76] KAJI (N.N.) et KHORANA (M.L.), Curr. Sci. India, 1964, 33, p. 462-463.

[77] FLÜCKIGER (F.A.) et HANBURY (D.), History of the principal drugs of vegetable origin met with in Great Britain and British India, London, 1879.

[78] DIMITRI (M.J.) et ALBERTI (F.R.), Revista de Investigaciones Agricolas, Buenos Aires, 1954, 8, p. 5-34.

[79] BENTHAM (G.), Transactions of the Linnean Society, London, 1871, 27, p. 503-591.

[80] ENGLER (A.) et PRANTL (K.), die natürlichen Pflanzen Familien, Leipzig, 1894, III, p. 157.

[81] NEELAKANTAN (S.) et SESHADRI (T.R.), J. Sci. indust. Res. India, 1960, 19, p. 71-79.

[82] VENKATARAMAN (K.), J. Ind. Chem. Soc., 1960, 37, p. 247-259.

[83] RICHARDS (J.H.) et HENDRICKSON (J.B.), The biosynthesis of steroids, terpenes and acetogenins. Benjamin Inc., New York, 1964.

[84] GOODWIN (T.W.), Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments, Academic Press, 1965.

[85] LEMLI (J.), Pharm. Weekblad, 1967, 102, p. 635-643.

Vu, Strasbourg, le 25 juin 1968.
Le Président du Jury,
P. DUQUÉNOIS.

Vu et approuvé :
Strasbourg, le 29 juin 1968.
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,
M. HASSELMANN.

Vu et permis d'imprimer :
Strasbourg, le 29 juin 1968.
Pr le Recteur de l'Académie
Président du Conseil de l'Université
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,
M. HASSELMANN.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 5

PREMIERE PARTIE - RAPPEL DES TRAVAUX ANTÉRIEURS 11

- Chromatographie appliquée à l'étude des drogues à dérivés anthracéniques 13
- Proposition de la Commission européenne de Pharmacopée pour l'identification chimique des Sénés 14

DEUXIEME PARTIE - RECHERCHES PERSONNELLES

- Techniques améliorées pour caractériser et identifier les dérivés anthracéniques 17

Chapitre I.- Extraction des principes actifs et analyse dichotomique 19

Chapitre II.- Analyse chromatographique sur couche mince dans le n-propanol-acétate d'éthyle-eau (4:4:3) et application aux Sénés officinaux 25

Chapitre III.- Nouvelle méthode d'identification par C.C.M. des génines anthracéniques 31

TROISIEME PARTIE - RECHERCHES PERSONNELLES

- Application à d'autres espèces de Cassia 35

Chapitre I.- C. obovata Coll. 37

Chapitre II.- C. nigricans Vahl 39

Chapitre III.- C. podocarpa Guill. et Perr. 45

Chapitre IV.- C. sieberiana D.C. 51

Chapitre V.- C. marylandica L. 61

Chapitre VI.- C. occidentalis L. 71

Chapitre VII.- C. punctata Vog. 101

Chapitre VIII.- C. spectabilis D.C. 105

Chapitre IX.- C. alata L. 109

Chapitre X.- C. siamea Lam. 113

Chapitre XI.- C. mimosoides L. 121

Chapitre XII.- C. tora L. 127

Chapitre XIII.- C. fistula L. 131

Chapitre XIV.- C. moschata H.B. et K. 133

Chapitre XV.- C. mexicana Jacq. 137
C. didymobotrya Fres. 138
C. latopetiolata Domb. 140
C. laevigata Willd. 142
C. sophera L. 145
C. corymbosa Lam. 147

QUATRIEME PARTIE - 149

Chapitre I.- Discussion chimio-taxinomique à partir de la classification de G. BENTHAM 151

Chapitre II.- Hypothèse sur la biosynthèse des dérivés anthracéniques dans le genre Cassia 157

CONCLUSIONS 159

BIBLIOGRAPHIE 165